

**UNTERSUCHUNGEN ZUM CARNITINSTOFFWECHSEL
IM SÄUGLINGS- UND KINDESALTER UND ZUM
STOFFWECHSEL VON EXOGEN ZUGEFÜHRTEM
CARNITIN**

Gerhard Schorer

*Diss
München
1985*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

wds-Offsetdruck E. Heuser Bereich Dissertationsdruck
Klausenberg 2, 8900 Augsburg 22, Telefon 0821/99 25 94

Aus der Forschergruppe Diabetes und dem Institut
für Klinische Chemie am Städtischen Krankenhaus
München-Schwabing

Direktor: Prof. Dr. O. Wieland

"Untersuchungen zum Carnitinstoffwechsel im
Säuglings- und Kindesalter und zum Stoffwechsel
von exogen zugeführtem Carnitin"

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gerhard Schorer
aus
Schwabmünchen
Jahr
1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. O. Wieland

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Mehnert

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der Mündlichen Prüfung: 27.6.1985

A	EINFÜHRUNG	S.	1
B	MATERIALIEN UND GERÄTE	S.	5
C	METHODEN		
1.	Probennahme	S.	6
1.1.	Serum, Plasma		
1.2.	Urin		
2.	Carnitinbestimmung	S.	6
2.1.	Testprinzip		
2.2.	Herstellung der Perchlorsäureextrakte	S.	7
2.3.	Hydrolyse der Carnitinester	S.	9
2.4.	Photometrischer Test	S.	9
3.	Acetyl-Carnitin-Bestimmung	S.	12
3.1.	Testprinzip		
3.2.	Herstellung von ^{14}C -Oxalacetat	S.	13
3.3.	Testansatz	S.	13
3.4.	Auswertung	S.	15
4.	Bestimmung von freien Fettsäuren, Ketonkörpern und Kreatinin	S.	16
5.	Meßgenauigkeit der durchgeführten Testmethoden	S.	17

5.1.	Photometrische Carnitinbestimmung	S. 17
5.1.1.	Reproduzierbarkeit und Wiederfindung	
5.1.2.	Standardkurve für Serum	S. 18
5.1.3.	Standardkurve für Urin	S. 19
5.2.	Acetyl-Carnitin-Test	S. 21
5.2.1.	Standardkurve für Serum	
5.2.2.	Standardkurve für Urin	S. 22
5.3.	Vergleich von Acetyl-Carnitinbestimmung mit Isotopentest bzw. Berechnung des kurzkettigen Acylcarnitins durch Differenz von Gesamtcarnitin - freies Carnitin	S. 23

D ERGEBNISSE

1.	Erstellung von Referenzbereichen bei Säuglingen und Kindern	S. 24
1.1.	Untersuchte Kollektive	
1.2.	Serumcarnitinspiegel bei Säuglingen und Kindern	S. 25
1.3.	Serumcarnitinspiegel bei Neugeborenen	S. 28
1.3.1.	Serumcarnitinspiegel (Mittelwerte) während der ersten 3 Lebenswochen	
1.3.2.	Intraindividueller Verlauf des Carnitinspiegels bei Neugeborenen	S. 32
1.4.	Carnitinbestimmung im Urin von Kindern	S. 35

III

2.	Untersuchungen zum Carnitinstoffwechsel im Hunger und bei Gabe von exogenem Carnitin	S. 42
2.1.	Serumcarnitinspiegel im Hungerzustand	
2.2.	Verhalten von exogen zugeführtem Carnitin bei gesunden Versuchs- personen	S. 46
	a) bei normalem Stoffwechselzustand	
	b) im Hunger	S. 51

E DISKUSSION

I.	Besonderheiten des Carnitinstoffwechsels bei Kindern	S. 57
	1. Serumcarnitinspiegel bei Kindern	
	2. Carnitinausscheidung bei Kindern	S. 62
II.	Carnitinstoffwechsel im Hungerzustand	S. 65
III.	Pharmakokinetik von oral zugeführtem Carnitin	S. 66

ZUSAMMENFASSUNG	S. 71
-----------------	-------

LITERATURVERZEICHNIS

DANK

LEBENS LAUF

A. EINFÜHRUNG

L-Carnitin (β -hydroxy- γ -trimethylaminobuttersäure) ist sowohl beim Menschen, als auch in tierischen Organismen essentiell für die β -Oxydation langkettiger Fettsäuren und kann somit in fast allen Geweben nachgewiesen werden. Besonders hohe Spiegel von Carnitin weisen Skelett- und Herzmuskel, Leber, Nieren und Nebenhoden auf (Marquis und Fritz (24); Cederblad und Lindstedt (8); Pongratz et al (31)).

Carnitin wird größtenteils mit der Nahrung aufgenommen, kann aber auch im menschlichen Körper in der Leber und Niere gebildet werden (Rudman et al (33)). Zur Carnitinsynthese bedarf es zweier essentieller Aminosäuren, nämlich Lysin und Methionin (Tanphaichitr und Broquist (35)). Die Synthese erfolgt über Lysin + S-adenosylmethionin $\rightarrow$ ϵ -N-trimethyl-L-Lysin $\rightarrow$ γ -butyrobetain $\rightarrow$ Carnitin. Figur 1 zeigt die Strukturformel des Carnitins.

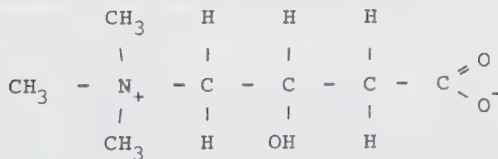


Fig.: 1 Strukturformel des Carnitins

Liegt ein Carnitinmangel oder ein Defekt eines der an der Fettsäureaufnahme in die Mitochondrien beteiligten Enzyme vor, so kann die Zelle langkettige Fettsäuren nicht mehr in ausreichender Menge oxydieren mit der Folge der Einschränkung der Energieproduktion. Carnitinmangelzustände sind beim Menschen mehrfach beschrieben worden. Sie äußern sich klinisch hauptsächlich in zwei Formen:

Engel und Angelini (14) konnten 1973 erstmals eine Lipidspeichermyopathie, mit Fetteinlagerungen vorwiegend in den Typ I - Fasern, ursächlich auf einen verminderten Carnitingehalt des Muskels zurückführen. Klinisch bestand eine allgemeine Muskelschwäche, gelegentlich mit umschriebenen Veränderungen einzelner Muskelgruppen (Nacken-, Kaumuskulatur, etc.). Der Serumcarnitinspiegel war normal. Die Erkrankung begann meist in der frühen Kindheit bis ins mittlere Lebensalter.

Karpati et al (22) berichteten 1975 über ein anderes Krankheitsbild mit ausgeprägter Muskelschwäche und schweren Allgemeinsymptomen mit myocardialer Beteiligung, Leberfunktionsstörungen und Enzephalopathie mit Erstmanifestation vom frühen Säuglingsalter bis zum 17-ten Lebensjahr. Neben veränderter Muskelbiopsie war auch die Leber pathologisch verändert. Beide Gewebe zeigten einen verminderten Carnitingehalt; auch die Plasmacarnitinspiegel waren deutlich erniedrigt. Von diesem "Systemischen Carnitinmangel" wurde die erstere Form des "Muskelcarnitinmangels" abgegrenzt. Die Ursachen dieser Erkrankungen sind noch weitgehend unbekannt.

Beide Formen des Carnitinmangels sprechen auf die orale Gabe von Carnitin mit unterschiedlichem Erfolg

an, wobei in der Regel die Carnitinspiegel im Serum sich normalisierten, während sie in der Leber und im Muskel aber weiterhin niedrig blieben (1) (12).

In verschiedenen Arbeiten wurden Normalbereiche für Serumcarnitinspiegel bei Erwachsenen bestimmt. Gute Übereinstimmung zeigen die Ergebnisse von Cederblad (9) und Deufel (13), die bei Männern höhere Carnitinspiegel als bei Frauen fanden.

Zu letzterer Arbeit wurden für Männer folgende Normalwerte im Serum angegeben: Gesamtcarnitin $60,4 \pm 9,4 \mu\text{mol/l}$, freies Carnitin $49,3 \pm 8,7 \mu\text{mol/l}$ und kurzkettiges Acylcarnitin $11,1 \pm 3,8 \mu\text{mol/l}$. Für Frauen gelten entsprechend folgende Werte: $47,9 \pm 9,3 \mu\text{mol/l}$, $36,9 \pm 8,7 \mu\text{mol/l}$ und $11,2 \pm 3,8 \mu\text{mol/l}$.

Im Gegensatz hierzu gibt es bisher in der Literatur keine sicheren Normalwerte für Carnitin bei Kindern. Mit der vorliegenden Arbeit sollte deshalb eine Lücke geschlossen werden, indem für die Diagnostik von Carnitin mangelsyndromen im Kindesalter Referenzwerte für den Serumcarnitinspiegel und die Carnitinausscheidung bei gesunden Kindern zu erarbeiten waren.

Ergebnisse von Schmidt-Sommerfeld et al (34) hatten Hinweise darauf gegeben, daß bei Neugeborenen die Serumcarnitinspiegel unter denen von Erwachsenen liegen. Da eine Altersabhängigkeit des Serumspiegels bisher nicht untersucht wurde, schien es erforderlich, diesbezügliche Messungen in die vorliegende Arbeit mit einzubeziehen.

Die Urinausscheidung von Carnitin wurde bisher hauptsächlich bei Erwachsenen und zwar von Ceder-

blad und Lindstedt (6), sowie von Maebashi et al (23) untersucht. Letztere bestimmten die Urinausscheidung auch bei einer kleinen Gruppe 8 - 15-jähriger Kinder.

Schließlich sollte die Metabolisierung und Ausscheidung von oral zugeführtem Carnitin bei gesunden Versuchspersonen untersucht werden. Nachdem aus der Literatur nur wenig Hinweise über die Pharmakokinetik von exogen zugeführtem Carnitin vorliegen (Karpati et al (22); Hosking et al (20); Angelini (1)), sollte insbesondere der zeitliche Verlauf des Anstiegs der Serumspiegel nach Carnitineingabe, eine mögliche Carnitin/Acylcarnitin-Umverteilung und die Ausscheidungsrate untersucht werden.

B. MATERIALIEN UND GERÄTE

L-Carnitin, Acetyl-D,L-Carnitin, HEPES: Sigma, St. Louis, USA; DTNB: Serva, Heidelberg; Heparin-Na: Nordmark-Werke, Hamburg; ^{14}C -Aspartat: Amersham, England; Dowex AG-50 W x 8: Bio Rad Laboratory; TRIS: Boehringer, Mannheim; alle übrigen Biochemikalien: Boehringer, Mannheim; alle übrigen anorganischen Chemikalien: Merck, Darmstadt. Für alle Lösungen wurde bidestilliertes Wasser verwendet.

Tischzentrifuge 3200, Tischrüttler, Trockenschrank, Thermostat-Block 3401, Mikroliterpipetten, Pasteurpipetten, Photometer 1101 M mit Schreiber 6511: Eppendorf-Gerätebau, Hamburg; Analysenwaage: Mettler H 20 T, Spoorhase, Giessen; pH-Meter: Radiometer, Kopenhagen, Dänemark; Scintillationszähler: Hewlett-Packard, USA.

Verwendete Abkürzungen:

CAT:	Carnitin-Acetyl-Transferase EC 2.3.1.7
CoA:	Coenzym A
CS:	Citratsynthase EC 4.1.3.7
DTNB:	5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoat)
HEPES:	N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethansulfonsäure
TRIS:	Tris-(hydroxymethyl) aminomethan
GOT:	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase EC 2.6.1.1

C. METHODEN

1. Probennahme

1.1. Serum, Plasma

Blut wurde aus einer Vene entnommen und bis zur Gerinnung bei Raumtemperatur stehengelassen.

Anschließend wurde die Probe 15 Minuten zentrifugiert und das Serum gesammelt.

Zur Plasmagewinnung wurde Blut in eine mit Heparin-Natrium benetzte Spritze abgenommen, gleich darauf wie oben zentrifugiert und das Plasma abgetrennt.

Die so erhaltenen Proben wurden bis zur späteren Weiterverarbeitung in Eppendorf Cups bei -15°C eingefroren.

1.2. Urin

a) Bestimmung der Carnitin-Konzentration im Urin

24 Stunden-Sammelurin wurde, sofern er alkalisch war, neutralisiert und bis zur Weiterverarbeitung bei -15°C eingefroren.

b) Bestimmung der quantitativen Carnitin-Ausscheidung nach oraler Aufnahme von DL-Carnitin

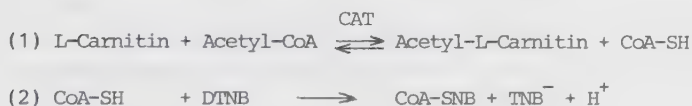
Urin wurde über die angegebenen Zeiten fraktioniert gesammelt und wie oben bei -15°C eingefroren.

2. Carnitinbestimmung

2.1. Testprinzip

Carnitin wurde nach einer Modifikation des Ver-

fahrens von Marquis und Fritz (24) enzymatisch-optisch bestimmt. Dieses Verfahren beruht auf der Umsetzung von L-Carnitin mit Acetyl-Coenzym A unter Wirkung des Enzyms Carnitin-Acetyl-Transferase (CAT, EC. 2.3.1.7). Dabei wird der Acetylrest von Acetyl-CoA auf freies Carnitin übertragen und das dabei frei werdende CoA-SH durch das farbgebende SH-Gruppen-Reagenz Dithiobisnitrobenzoat (DTNB) photometrisch bestimmt. Gemessen wird das gelbgefärbte Thionitrobenzoat-Anion (TNB^-) bei 405 nm. Reaktionsschema:



Anderweitige im Extrakt vorliegende freie SH-Gruppen, die durch unspezifische Reaktion mit DTNB den Test stören könnten, werden nach Deufel (13) vorher durch Reaktion mit H_2O_2 oxydiert. Das überschüssige H_2O_2 wird durch Katalase entfernt.

Freies Carnitin wird in einem vorsichtig neutralisierten Perchlorsäureextrakt direkt bestimmt. In einer zweiten Probe dieses Extraktes wird nach alkalischer Hydrolyse und anschließender erneuter Neutralisation das gesamte säurelösliche Carnitin bestimmt. Aus der Differenz der beiden Bestimmungen erhält man den Anteil der kurzkettigen Acylcarnitine, zumeist Acetylcarnitin.

2.2. Herstellung der Perchlorsäureextrakte

Von den Serum- oder Plasmaproben wurden 200 μl

mit 200 μl HClO_4 (Perchlorsäure), 1,2 Mol/l, gut gemischt und 10 Minuten bei Raumtemperatur stehengelassen. Danach wurde 2 - 3 Minuten in der Eppendorf-Tischzentrifuge zentrifugiert. Der Überstand wurde vollständig in ein vorher abgewogenes Eppendorf-Cup übergeführt. Das Sediment wurde dann noch dreimal mit je 100 μl HClO_4 , 0,6 Mol/l, gewaschen, abzentrifugiert und alle Überstände vereinigt. Das Gesamtvolumen der Extrakte wurde durch Wägung und Berechnung unter Zugrundelegung einer geschätzten Dichte von 1,06 g/cm³ bestimmt.

Zur Neutralisation wurden 600 μl Perchlorsäureextrakt mit 50 μl Kaliumphosphatpuffer, 1 Mol/l, pH 6,5 gemischt und dann mit ca. 350 μl KOH, 1 Mol/l, vorsichtig auf pH 6 - 7 gebracht.

Um das gebildete Perchlorat möglichst vollständig auszufällen (da es die CAT hemmt), wurden die Extrakte für mindestens 15 Minuten ins Eisbad gestellt, anschließend der Niederschlag abzentrifugiert und der Überstand zur Carnitinbestimmung eingesetzt.

Dieses Extraktions- und Neutralisationsverfahren wurde später wie folgt geändert, ohne daß dies die Ergebnisse veränderte:

100 μl Serum- oder Plasmaprobe wurden mit 100 μl 1,2 Mol/l HClO_4 gut gemischt und mindestens 10 Minuten bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend wurde 5 Minuten zentrifugiert und der Überstand in ein Eppendorf-Cup pipettiert. Das Sediment wurde dann noch zweimal mit je 100 μl 0,6 Mol/l HClO_4 aufgerührt, jeweils abzentrifugiert und alle Überstände vereinigt, wodurch

sich ein Verdünnungsfaktor von 1:4 ergab. Der so erhaltene Perchlorsäureextrakt wurde mit festem Kaliumhydrogenkarbonat (KHCO_3) neutralisiert und dann wie oben ins Eisbad gestellt. Um Schaumbildung zu vermindern, wurden Spuren von n-Octanol zugesetzt.

Die Urinproben konnten ohne Enteiweißung, nach kurzem Zentrifugieren direkt in den Carnitintest eingesetzt werden. Wegen der hohen Carnitinkonzentration wurde jeweils von einer 1:5 verdünnten 200 μl Probe ausgegangen.

2.3. Hydrolyse der kurzkettigen Acylcarnitine (Carnitinester)

Vom gut gemischten neutralisierten Perchlorsäure-Extrakt wurden 200 μl mit 50 μl KOH, 1 Mol/l, gemischt und 15 Minuten bei 56°C im Wärmeblock inkubiert. Danach wurde mit ca. 40 μl HClO_4 , 1,2 Mol/l, wieder auf pH 6 - 7 eingestellt und mindestens 15 Minuten im Eisbad gekühlt. Nach Abzentrifugieren wurde der Überstand zur Bestimmung der gesamten säurelöslichen Acylcarnitine in den Test eingesetzt.

Die Urinproben wurden entsprechend behandelt.

2.4. Photometrischer Test

a) Entfernung störender SH-Gruppen

200 μl neutralisierter Perchlorsäure-Extrakt oder neutralisierte Urinprobe (1:5 Verd.), vor oder nach Hydrolyse, wurden in einem Eppendorf-Cup mit

- 10 μl 30%igem H_2O_2 (Perhydrol, Merck 1:11 verdünnt mit 50mMol/l Hepes-Puffer pH 7,5)

- 10 μ l DTNB (2mg/ml in 50 mMol/l Hepes, neutralisiert)
- 20 μ l Hepes 0,5 Mol/l, pH 7,5

gemischt und bei Raumtemperatur 10 Minuten stehengelassen. Eine eventuell zu beobachtende Gelbfärbung nach Zugabe von DTNB war bis dahin vollständig verschwunden. Dieses Verfahren wurde später vereinfacht:

Unmittelbar vor Verwendung wurde folgendes Gemisch angesetzt:

- 100 μ l DTNB (1 mg/ml Hepes 0,5 Mol/l +
100 μ l EDTA, 0,1 Mol/l, pH 7,3)
gemischt mit
- 10 μ l H_2O_2 (Perhydrol 30%).

Dann wurden zu

100 μ l neutralisiertem Extrakt (hydrolysiert
bzw. nicht hydrolysiert)

100 μ l Wasser und

20 μ l DTNB/Hepes/ H_2O_2 -Gemisch

zugesetzt und bei Raumtemperatur 10 Minuten stehengelassen.

Die weitere Behandlung der Proben ist nun bei beiden Methoden wieder identisch.

Nach dieser 10minütigen Inkubation wurden 10 μ l Katalase (Boehringer, 1,3 Millionen Einheiten pro ml, hundertfach verdünnt mit Wasser) zugegeben und das Gefäß ca. 30 - 40 Minuten offen stehengelassen, bis keine Bläschen mehr aufstiegen.

b) Testansatz

Zum vorinkubierten Ansatz wurden 10 μl Acetyl-CoA-Lösung (3,7 mMol/l in H_2O) gegeben, umgerührt und anschließend kurz (1 Minute) zentrifugiert. Dadurch wurden eventuell noch vorhandene Sauerstoffbläschen entfernt.

Von diesem Ansatz wurden 200 μl in eine 250 μl Mikro-Glas-Küvette gegeben und am Photometer-Schreiber bei 405 nm, vierfacher Spreizung, 25°C, der Vorlauf über ca. 5 Minuten bis zur Konstanz verfolgt. Dann wurde die Reaktion mit 10 μl Carnitinacetyltransferase gestartet und der Test bis zur Konstanz verfolgt. Die Herstellung der Enzymlösung erfolgte durch kurzes Abzentrifugieren der CAT-Enzymsuspension (Boehringer, 400 Einheiten pro ml), Abhebern des ammoniumsulfathaltigen Überstandes und Auflösen des Sedimentes im 7-fachen Volumen mit 50 mMol/l Hepes-Puffer, pH 7,5.

Wie sich gezeigt hat, können schleichende Testverläufe (nicht horizontaler Endverlauf der Extinktionskurve am Schreiber) vermieden werden, wenn eine höhere Verdünnung der Carnitinacetyltransferaselösung gewählt wird (CAT 1:20 verd.).

Bei nichthorizontalem Testverlauf wurde zur Berechnung des Carnitingehalts auf den Zeitpunkt der CAT-Zugabe zurückextrapoliert.

Aus der Extinktionsdifferenz und unter Zugrundelegung des Molaren Extinktions-Koeffizienten $\epsilon = 13,6 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$, sowie unter Berücksichtigung der Verdünnung durch Extraktion, Neutralisation, gegebenenfalls

Hydrolyse und Vorinkubation mit H_2O_2 , wurde die Carnitinkonzentration der Probe in $\mu\text{mol/l}$ berechnet. Der ϵ -Wert = $13,6 \mu\text{mol/cm}^2$ gilt eigentlich für die Wellenlänge 412 nm. Er kann aber ebenso gut für die Wellenlänge 405 nm verwendet werden, wo die Absorption praktisch dieselbe wie bei 412 nm ist.

3. Acetyl-Carnitin-Bestimmung (Isotopenmethode)

3.1. Testprinzip

Acetylcarnitin wurde in einer Modifikation des Verfahrens von Pande und Caramancion (28) bestimmt. Dabei werden Acetyl-Carnitin und CoA mit Carnitinacetyltransferase (CAT) zu Acetyl-CoA und Carnitin umgesetzt (siehe Reaktionsschema (3)).

Acetyl-CoA wird in einem weiteren Reaktionsschritt mit ^{14}C -markiertem Oxalacetat und Citratsynthase (CS), (EC 4.1.3.7) zu ^{14}C -Citrat umgesetzt (Reaktionsschema (4)). Vom überschüssigen Oxalacetat wird die Markierung durch Decarboxylierung bei 120°C entfernt.

Das ^{14}C -Oxalacetat wird jeweils frisch aus ^{14}C -Aspartat und α -Ketoglutarat mit Glutamat-Oxalacetat-Transferase hergestellt und über eine Kationen-Austauschersäule von diesem abgetrennt (Reaktionsschema (5)).

Reaktionsschema:



3.2. Herstellung von ^{14}C -Oxalacetat



6 mg α -Ketoglutarat (0,2 Mol/l) wurden in 100 μl Wasser und 100 μl Hepes-Puffer, 0,3 Mol/l, pH 7,2, gelöst und anschließend durch Zugabe von 5 μl KOH (50%) neutralisiert und dann mit KOH, 1 Mol/l, vorsichtig auf pH 7 eingestellt.

Zu einem Gemisch aus 100 μl neutralisiertem α -Ketoglutarat und 100 μl Hepes, 0,3 Mol/l, pH 7,2, wurden 20 μl ^{14}C -Aspartat ($\cong$ 20 μCi , Amersham; spez. Aktivität 178 mCi/mmol) gegeben und mit 20 μl Glutamat-Oxalacetat-Transferase (GOT), (Boehringer), 1:5 verd. mit Wasser, gestartet. Nach ca. 15 Minuten bei Raumtemperatur wurde das ^{14}C -Oxalacetat über eine Ionenaustauscher-Säule abgetrennt. Dazu wurden 0,7 g Dowex AG-50 W x 8 dreimal mit Wasser gewaschen und in eine Pasteurpipette eingefüllt. Dann wurden 200 μl ^{14}C -Oxalacetat-Ansatz auf die Säule gegeben und einsickern gelassen. Anschließend wurde mit Wasser eluiert und 6 Fraktionen zu je 200 μl im Eisbad gesammelt. Von jeder Fraktion wurden 5 μl ausgezählt. Die Fraktionen mit den drei höchsten Aktivitäten wurden vereinigt und unmittelbar vor dem Test mit KOH, 1 Mol/l (ca. 40 μl), vorsichtig auf pH 7 eingestellt.

3.3. Testansatz

Zur Acetylcarnitinbestimmung wurden in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß 20 μl Urin (1:21 verd.) bzw. eiweißfreier Serum-Extrakt oder 10 μl Serum pi-

pettiert und jeweils bis zu einem Volumen von 50 μl mit Wasser aufgefüllt. Ferner wurden 20 μl Hepes-Puffer, 0,3 Mol/l, pH 7,2 und 10 μl CoA, 50 mMol/l (40 mg/ml) dazugegeben.

Gestartet wurde die Reaktion mit 10 μl CAT (1:5 verd. mit Wasser) durch 2-minütiges Rütteln im Eppendorf-Mischer und anschließender Inkubation bei 37°C für 35 Minuten.

Danach wurde mit 10 μl 30%igem H_2O_2 (1:11 verd. mit Hepes-Puffer, 50 mMol/l, pH 7,5) das überschüssige CoA entfernt. Nach weiteren 10 Minuten erfolgte die Zugabe von 10 μl Katalase (1:50 verd. mit Hepes, 50 mMol/l). Die Reaktionsgefäße wurden nach gründlichem Mischen mit dem Spatel ca. 30 Minuten bei Raumtemperatur offen stehen gelassen, bis keine Blasen mehr aufstiegen. Anschließend wurde Protein durch Zugabe von 100 μl , 1,2 Mol/l HClO_4 ausgefällt und der Reaktionsansatz für 5 Minuten im Eisbad stehengelassen. Nach kurzem Zentrifugieren wurde der Überstand der Urinproben bzw. eiweißfreien Extrakte abgehebert und mit Tris-Puffer, 2 Mol/l, pH 7,5 (ca. 150 μl) auf pH 6 eingestellt, während bei den Serumproben das Sediment nochmals mit 100 μl HClO_4 , 0,6 Mol/l, gewaschen wurde. Die vereinigten Überstände wurden dann ebenso mit Tris-Puffer neutralisiert.

Von diesen Proben wurden 100 μl mit 200 μl Hepes, 0,3 Mol/l, pH 7,2 und 20 μl ^{14}C -Oxalacetat (40 μMol) sowie 20 μl Citratsynthase (1:5 verd. in Wasser) in einem Eppendorf-Cup gemischt und 40 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen.

Die Reaktion wurde mit 20 μl eines Gemisches von

35 % HClO_4 und Citronensäure, 1 Mol/l (1:1) gestoppt. Nach 2 Minuten Mischen wurden die geöffneten Cups im Trockenschrank bei 120°C stehen gelassen, so daß, in der Regel nach ca. 80 Minuten, gerade noch ein kleiner Rest Flüssigkeit zurückblieb. Nach dem Abkühlen wurde zu jeder Probe 200 μl Wasser zugegeben, gemischt und der gesamte Ansatz mit 5 ml Scintigel ausgezählt.

Ursprüngliche Versuche, die Umsetzungen von Acetylcarnitin zu Acetyl-CoA und ^{14}C -Oxalacetat zu ^{14}C -Citrat zusammenzufassen durch Start der Reaktion mit 10 μl eines 1:1 Gemisches aus Carnitinacetyltransferase (1:2 verd. mit Wasser) und Citratsynthase (1:4 verd.), schlugen durch extrem hohe Leerwerte, möglicherweise durch Verunreinigungen der Enzyme bedingt, fehl.

3.4. Auswertung

Bei jeder Versuchsreihe wurden Acetylcarnitin-Standards mitbestimmt. Aus der linearen Standardkurve (siehe Figuren 4 + 5) konnte die Acetylcarnitin-Konzentration der einzelnen Proben berechnet werden.

Ebenso wurde bei jeder Versuchsreihe ein Leerwert ermittelt, indem bei einem Testansatz die Carnitinacetyltransferase (CAT) weggelassen wurde. Um diesen Wert wurden die Zählraten der einzelnen Proben reduziert.

4. Bestimmung von freien Fettsäuren, Ketonkörpern und Kreatinin

Die freien Fettsäuren wurden routinemäßig mit einem Test-Kit der Firma Wako Pure Chemical Industries, LTD, Osaka, Japan, gemessen (NEFA C-Test (non-esterified fatty acids)).

Die Bestimmung der Ketonkörper erfolgte nach Williamson und Mellanby (2).

Kreatinin wurde kolorimetrisch am Autoanalyser (SMA, Technicon) gemessen.

5. Meßgenauigkeit der durchgeführten Testmethoden

5.1. Photometrische Carnitinbestimmung

5.1.1. Reproduzierbarkeit und Wiederfindung

Bei Bestimmung der Carnitinkonzentration einer Serumprobe (200 µl) in 5 Messungen in Serie erhielt man die in Tabelle 1 angegebenen Variationskoeffizienten.

Probe No.	1	2	3	4	5	$\bar{x} \pm s$	VK
Freies Carn.	79,8	82,7	78,7	89,1	80,7	$82,2 \pm 4,1$	3,6%
Gesamt Carn.	97,5	104,2	99,3	113,6	108,1	$104,5 \pm 6,6$	4,8%
Kurzk.Acylc.	17,7	21,5	20,6	24,5	27,4	$22,3 \pm 3,7$	10,8

Carnitinkonzentration in µmol/l

Tabelle 1: Serumcarnitinbestimmung in Serie

Zu einer weiteren Probe wurde 20,6 µmol/l L-Carnitin-Standard zugegeben und die Carnitinkonzentration bestimmt. Wie die Tabelle 2 zeigt, war die Wiederfindung nahezu 100 %.

	Ist-Wert	$\bar{x}$	+ L-Carnitin = Standard	Soll-Wert	Wiederfindung
Freies Carnitin	102,1	82,2	20,6	102,8	99,3 %
Gesamt Carnitin	124,6	104,5	20,6	125,1	99,6 %
Kurzk.Acylcarn.	22,5	22,3	---		

Carnitinkonzentration in µmol/l

Tabelle 2: Wiederfindung von L-Carnitin

5.1.2. L-Carnitin-Standardkurve für Serum

Zu 200 μl Serumprobe wurden 50 μl einer 0,274 mMol/l L-Carnitin-Standardlösung in verschiedenen Verdünnungen gegeben und die Carnitinkonzentrationen bestimmt. Folgende Werte wurden erhalten:

Probe No.	1	2	3	4
Freies Carnitin (gemessen)	55,7	114,2	90,2	81,7
zugegesetzter Standard	0	54,8	36,5	27,4
theoret. Konzentration	55,7	110,5	92,2	83,1

Carnitinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$

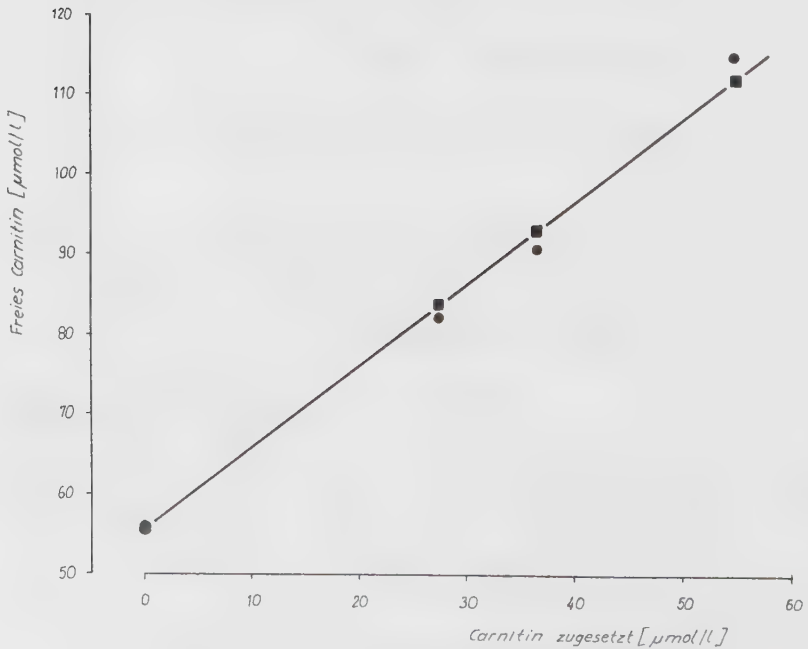


Fig. 2: L-Carnitin-Standardkurve für Serum

Punkte: gemessene Werte
Quadrate: theoretische Werte

5.1.3. L-Carnitin-Standardkurve für Urin

Zu je 200 μl einer Urinprobe (1:5 verd.) wurden 50 μl einer 0,319 mMol/l L-Carnitin-Standardlösung in verschiedenen Verdünnungen gegeben. Folgende Werte wurden nach der üblichen Carnitinbestimmung gefunden:

Probe No.	1	2	3	4	5
Freies Carnitin (gemessen)	46,9	119,9	78,1	62,5	54,8
zugegesetzter Standard	0	63,7	31,9	15,9	7,96
Theoret. Konzentration	46,9	110,6	78,8	62,8	54,9
Carnitinkonzentration in $\mu\text{mol/l}$					

Standardkurve siehe Figur 3.

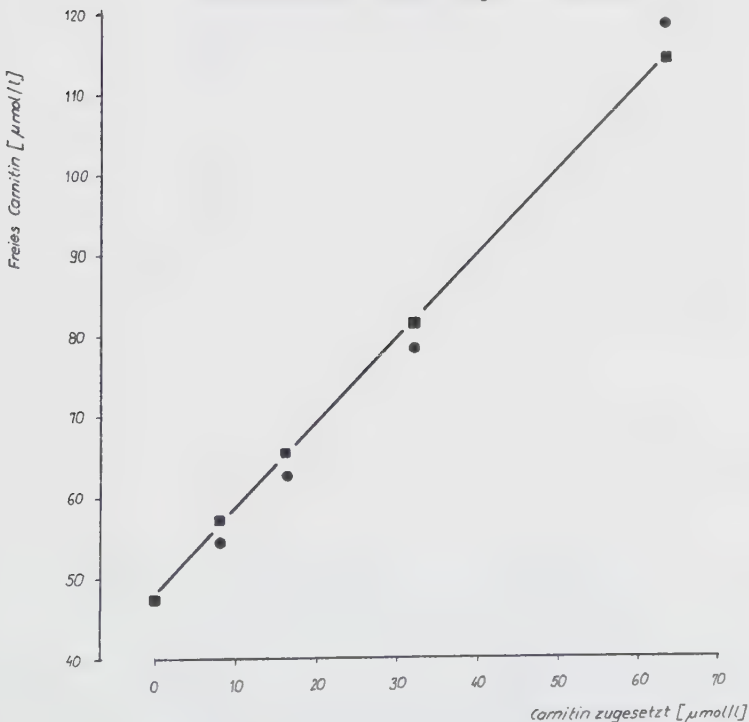


Fig. 3: L-Carnitin-Standardkurve für Urin
Punkte: gemessene Werte
Quadrate: theoretische Werte

L-Acetylcarnitin-Standard im Urin (Hydrolyse)

Zu je 200 μ l Urinprobe (1:5 verdünnt) wurden 50 μ l einer 0,197 mMol/l Acetyl-L-Carnitin-Standardlösung in verschiedenen Verdünnungen gegeben. Carnitin wurde vor und nach Hydrolyse bestimmt.

Probe No.	1	2	3	4	5
Gesamt Carnitin	136,3	189,3	154,0	141,4	146,4
Freies Carnitin	46,9	46,9	46,9	46,9	49,9
Kurzk.Acylcarnitin	89,4	142,4	107,1	99,5	94,5
zuges. Standard	0	39,4	19,7	9,85	4,93
Theoret.Konzentrat.	89,4	128,8	109,1	99,3	94,3

Carnitinkonzentration in μ mol/l

5.2. Acetyl-Carnitin-Test (Isotopenmethode nach (27))

5.2.1. Standardkurve für Serum

Zu je 10 μ l einer Serumprobe wurden verschiedene Mengen L-Acetylcarnitin-Standard gegeben und der Acetylcarnitingehalt nach der Isotopenmethode bestimmt:

zugesetzter Standard	660	330	165	82	0
pmol/test					
Zählraten cpm	13.034	6587	4931	3960	1948

Durch lineare Regression wurde die Steigung ($m = 16,1$) der Geraden und der zugehörige y-Achsen-schnittpunkt ($0;2115$) ermittelt (siehe Fig. 4).

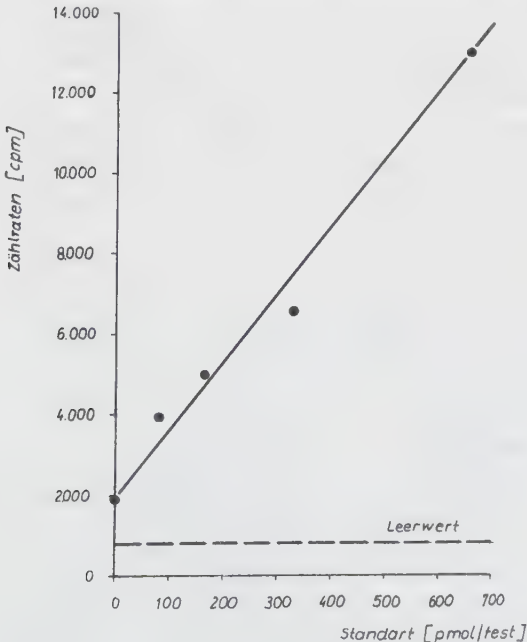


Fig. 4: Acetylcarnitin-Standardkurve für Serum

Bestimmung siehe Teil C.3.1.

Leerwert = Testansatz ohne Zugabe von CAT

5.2.2. Standardkurve für Urin

Zu jeweils 20 µl Urinprobe (1:21 verd.) wurden wie oben L-Acetylcarnitin-Standardlösungen zugegeben.

zuge-setzter Standard pmol/test	660	330	165	82	0
Zählraten cpm	12.401	7381	4312	2818	1561

Aus den Wertepaaren erhielt man durch lineare Regression eine Steigung von $m = 16,6$, sowie einen zugehörigen y-Achsen-schnittpunkt (0;1596). Siehe Fig.5!

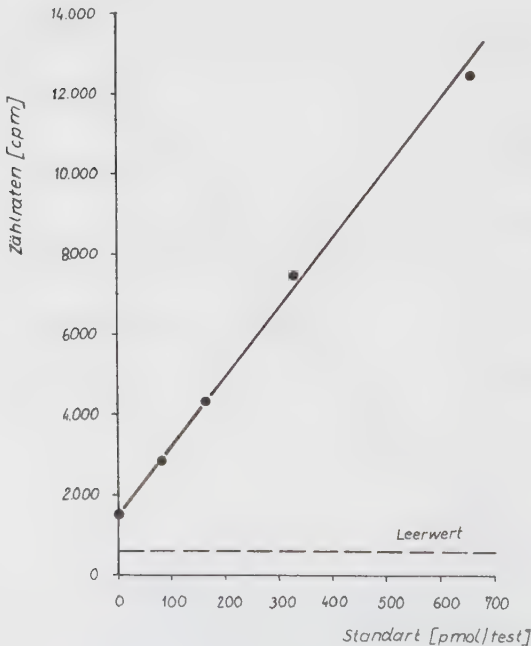


Fig. 5: Acetylcarnitin-Standardkurve für Urin

Bestimmung siehe Teil C.3.1.

Leerwert = Testansatz ohne Zugabe von CAT

5.3. Vergleich von Acetyl-Carnitinbestimmung mit Isotopentest bzw. Berechnung des kurzkettigen Acylcarnitins durch Differenz von Gesamtcarnitin - freies Carnitin

Die photometrische Carnitinbestimmung ist keine spezifische Methode zur Messung von Acetylcarnitin. Durch Differenzbildung von Gesamtcarnitin und freiem Carnitin erhält man nur den Anteil der kurzkettigen Acylcarnitinester. Mit der beschriebenen Methode zur spezifischen Messung von Acetylcarnitin (siehe C.3.1.) wurde dessen Anteil an kurzkettigen Acylcarnitinen unter sucht. Dazu wurden von 6 beliebigen Serumproben von Kindern Acetylcarnitin in Doppelwerten bestimmt.

Aus dem Vergleich zur photometrisch gemessenen kurzkettigen Acylcarnitin-Konzentration (siehe Tabelle 3) geht hervor, daß - wie angenommen - der wesentliche Anteil des veresterten Carnitins dem Acetylcarnitin zukommt.

Tabelle 3:

Anteil von Acetylcarnitin an der Fraktion der kurzkettigen Acylcarnitinester im Serum

Proben-Nr.	Kurzk.Acylcarnitin $\mu\text{mol/l}$ (photometrisch gemessen)	Acetylcarnitin $\mu\text{mol/l}$ (Acetylcarnitin- Isotopentest)	Anteil %
1	13.3	14.6	109.8
2	16.2	13.3	82.1
3	26.1	19.7	75.5
4	13.7	13.8	100.7
5	26.8	7.8	29.1
6	12.7	10.8	85.0

Kurzk. Acylcarnitinbestimmung wie unter C.2.;
Acetylcarnitinbestimmung wie unter C.3. beschrieben.

D. ERGEBNISSE

1. Erstellung von Referenzbereichen bei Säuglingen
 und Kindern

1.1. Untersuchte Kollektive

Die Kontrollgruppen bestanden aus Kindern vom Neugeborenenalter bis zum 15. Lebensjahr. Die Neugeborenenstammen stammten von Säuglingen mit der klinischen Diagnose Icterus prolongatus neonatorum, bzw. von gesunden Kindern bei der Durchführung des Phenylketonurie-Screenings (Guthrie-Test) am 5. Lebenstag. Da bei älteren Kindern nicht genügend gesunde Kontrollen zur Verfügung standen, wurden auch Kinder berücksichtigt, bei denen keine Erkrankungen vorlagen, die den Carnitinstoffwechsel beeinflussen, wie Myopathie, Diabetes, Hepatopathie, Nephropathie, Kachexie, Adipositas sowie frische Weichteilverletzungen und Operationen.

Zur Untersuchung der Carnitinausscheidung im Urin wurden ausnahmslos 24-Stunden-Sammelurine von gesunden Kindern gemessen.

Die einzelnen Kollektive gliedern sich folgendermaßen:

Die Kontrollgruppe zur Bestimmung der Serumcarnitinspiegel bei Säuglingen und Kindern bis zum 15. Lebensjahr bestand aus 149 Versuchspersonen, davon waren 81 männlichen und 68 weiblichen Geschlechts. Sie wurden in 6 Altersgruppen eingeteilt (siehe auch D.1.2.).

Die Kontrollgruppe zur Messung der Serumcarnitinspiegel bei Neugeborenen bestand aus 75 Neugeborenen im Alter bis zu 21 Lebenstagen. Davon waren 44 männlichen und 31 weiblichen Geschlechts (siehe D.1.3.).

Zur Untersuchung der Carnitinausscheidung im Harn wurden bei 122 Kindern (79 männlichen und 43 weiblichen Geschlechts) 24-Stunden-Sammelurine gewonnen. Das untersuchte Kollektiv wurde in 9 Altersklassen, von Frühgeburten bis zu 6 - 7 Jährigen eingeteilt (siehe D.1.4.).

1.2. Serumcarnitinspiegel bei Säuglingen und Kindern

In Tabelle 4 und Figur 6 sind die Ergebnisse der Bestimmungen von Gesamtcarnitin, freiem Carnitin und kurzkettigem Acylcarnitin im Serum von Säuglingen und Kindern zusammengestellt. Die Ergebnisse sind nach Altersklassen gruppiert. Eine eindeutige Abhängigkeit der Carnitinkonzentration vom Lebensalter der Kinder ließ sich nicht zeigen. Der Anteil des freien Carnitins allerdings steigt bis zum Pupertätsalter gering an. Auffällig ist der hohe Anteil des kurzkettigen Acylcarnitins in der Säuglingsphase, der dann später allmählich bis auf Höhe der Erwachsenenwerte abfällt. Mit Ausnahme der Gruppe der 1 - 3 Jährigen liegen beim männlichen Geschlecht geringfügig höhere Carnitinkonzentrationen vor.

Tabelle 4: Serumcarnitinspiegel bei Säuglingen und Kindern

Alter	n	♂			n	♀		
		Gesamtcarnitin	Freies Carnitin	Kurzk.Acylcar.		Gesamtcarnitin	Freies Carnitin	Kurzk.Acylcar.
0 - $\frac{1}{4}$	18	66.2 $\pm$ 18.3 (42.0 bis 114.6)	45.9 $\pm$ 10.7 (25.9 bis 69.4)	20.3 $\pm$ 13.0 (8.7 bis 54.1)	12	61.6 $\pm$ 15.0 (46.2 bis 90.8)	41.1 $\pm$ 6.9 (32.3 bis 52.9)	20.5 $\pm$ 11.8 (8.1 bis 41.4)
$\frac{1}{4}$ - $\frac{3}{4}$	12	75.2 $\pm$ 12.6 (60.2 bis 103.9)	53.8 $\pm$ 12.6 (37.9 bis 77.3)	21.4 $\pm$ 10.6 (7.3 bis 29.3)	8	64.4 $\pm$ 22.6 (41.2 bis 107.1)	36.6 $\pm$ 7.8 (30.9 bis 54.1)	27.8 $\pm$ 16.9 (7.7 bis 53.0)
$\frac{3}{4}$ - 1	6	69.7 $\pm$ 6.3 (59.2 bis 77.2)	53.9 $\pm$ 3.9 (48.7 bis 59.5)	15.8 $\pm$ 4.9 (10.5 bis 23.3)	4	64.3 $\pm$ 17.4 (47.3 bis 88.4)	48.8 $\pm$ 12.1 (35.4 bis 64.8)	15.5 $\pm$ 5.5 (11.9 bis 23.6)
1 - 3	11	59.0 $\pm$ 10.9 (43.7 bis 82.0)	41.2 $\pm$ 12.3 (10.7 bis 56.6)	17.8 $\pm$ 11.7 (8.1 bis 45.8)	11	71.5 $\pm$ 15.4 (46.1 bis 98.5)	48.2 $\pm$ 12.8 (27.9 bis 65.7)	23.3 $\pm$ 9.1 (10.2 bis 41.7)
3 - 9	19	78.9 $\pm$ 13.3 (57.9 bis 106.1)	57.3 $\pm$ 9.4 (37.3 bis 76.9)	21.6 $\pm$ 9.5 (11.3 bis 46.1)	24	71.9 $\pm$ 14.8 (36.9 bis 98.3)	53.3 $\pm$ 11.5 (28.2 bis 76.9)	18.6 $\pm$ 9.9 (4.6 bis 38.0)
9 - 15	15	75.0 $\pm$ 17.1 (52.4 bis 95.1)	58.5 $\pm$ 13.6 (30.8 bis 81.4)	16.6 $\pm$ 10.2 (3.1 bis 36.8)	9	70.0 $\pm$ 13.8 (42.3 bis 85.1)	56.5 $\pm$ 9.5 (39.5 bis 69.0)	13.5 $\pm$ 6.4 (2.8 bis 21.0)

Angegeben sind Carnitinkonzentrationen in $\mu\text{mol/l}$

Carnitinbestimmung wie unter C.2. beschrieben; zur Zusammensetzung des Kollektivs siehe D.1.1.

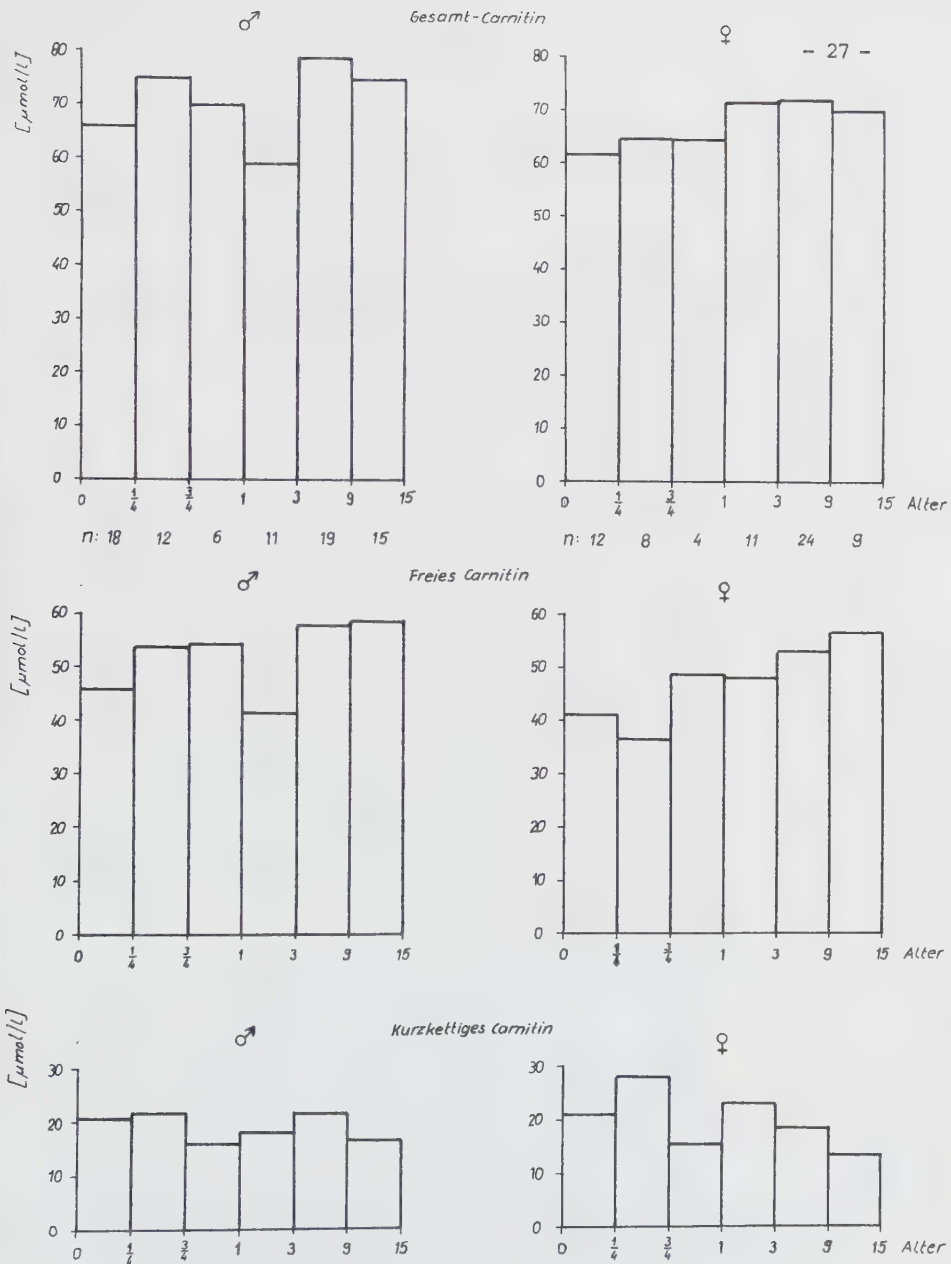


Fig. 6: Serumcarnitinkonzentration in Abhängigkeit vom Lebensalter

Aufgezeichnet sind die Carnitinkonzentrationen (Mittelwerte) im Serum gegen das Lebensalter; links: männliche Probanden, rechts: weibliche Probanden. n = Anzahl der Proben. Genaue Zusammensetzung des Kollektivs siehe unter D.1.1.

1.3. Serumcarnitinspiegel bei Neugeborenen

1.3.1. Verlauf des Carnitinspiegels während der ersten 3 Lebenswochen

Aus den Ergebnissen der Tabelle 4 war zu vermuten, daß der Carnitingehalt des Serums schon sehr früh nach der Geburt die im Erwachsenenalter gefundenen Werte erreicht.

Um den Zeitpunkt des Anstiegs der Carnitinwerte in den Normalbereich genauer zu erfassen, wurde eine Verlaufsbeobachtung der Serumcarnitinspiegel während der ersten 3 Lebenswochen vorgenommen. Dazu wurden aus 129 Serumproben von 60 Säuglingen mit Icterus prolongatus neonatorum innerhalb der ersten 21 Lebenstage Carnitin bestimmt. Außerdem wurden Seren von 15 gesunden Säuglingen am 5. Lebenstag anlässlich der Durchführung des Phenylketonurie Screenings untersucht.

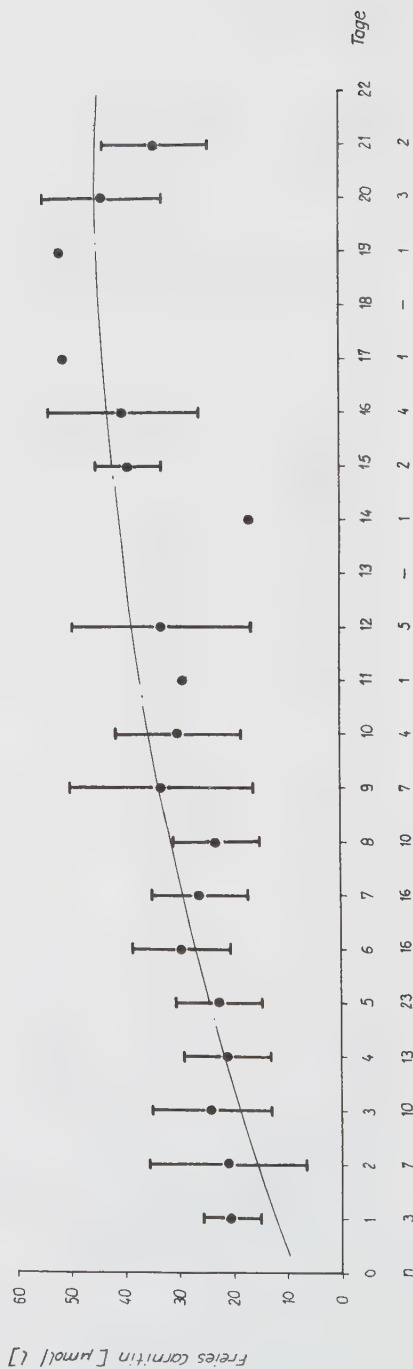
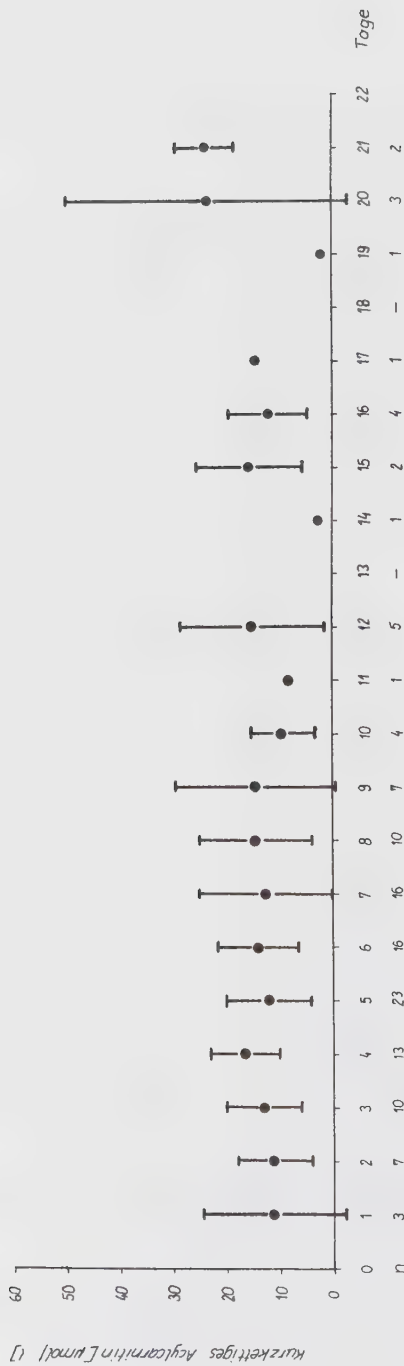
Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 und Figur 7 zusammengefaßt. Daraus geht hervor, daß die Spiegel von freiem- und Gesamt-Carnitin in den ersten 20 Lebenstagen gegenüber den Normwerten für Erwachsene erniedrigt sind.

Die Spiegel des kurzkettigen Acylcarnitins sind insgesamt starken Veränderungen unterworfen und zeigen keine Gesetzmäßigkeit im Verlauf; allerdings liegen sie relativ hoch, zum Teil über den bei Erwachsenen gefundenen Werten. Bedingt durch den hohen Anteil kurzkettigen Acylcarnitins entsprechen die Spiegel für Gesamtcarnitin in der dritten Lebenswoche bereits annähernd den Referenzwerten für Erwachsene, während die Spiegel

Tabelle 5: Carnitinkonzentration bei Neugeborenen (♂ + ♀)

Lebenstage	Gesamt-Carnitin		Freies Carnitin		Kurz-k.Acylcarnitin		n
	Mittelw.	St.-Abw.	Mittelw.	St.-Abw.	Mittelw.	St.-Abw.	
1	31.4	11.6	20.4	4.9	11.1	13.6	3
2	31.9	14.2	21.2	14.8	10.7	6.7	7
3	37.3	11.1	24.1	10.6	13.2	7.1	10
4	37.9	9.2	21.4	8.4	16.5	6.5	13
5	34.9	14.7	22.7	8.1	12.2	8.3	23
PKU-Screening	31.1	13.3	21.8	9.1	9.3	6.2.	15
6	43.4	13.3	29.2	9.0	14.2	7.4	16
7	38.8	17.3	26.0	8.7	12.7	12.7	16
8	38.0	11.4	23.4	8.1	14.6	10.3	10
9	48.2	31.1	33.2	17.0	15.0	15.5	7
10	39.7	16.1	29.9	11.4	9.7	6.1	4
11	37.9	-	29.6	-	8.3	-	1
12	48.4	24.8	33.6	17.0	14.9	13.4	5
13	-	-	-	-	-	-	-
14	18.8	-	16.7	-	2.1	-	1
15	54.1	15.1	39.0	5.4	15.1	9.8	2
16	51.9	16.0	40.2	13.5	11.7	7.5	4
17	66.3	-	51.6	-	14.7	-	1
18	-	-	-	-	-	-	-
19	53.6	-	51.8	-	1.8	-	1
20	67.1	37.9	44.1	10.9	23.1	26.9	3
21	58.0	13.6	34.3	9.2	23.7	4.5	2

Zur Zusammensetzung des untersuchten Kollektivs siehe D.1.1.; 1.3.1.
 Carnitinbestimmung wie unter C.2., angegeben sind $\mu\text{mol/l}$ Serum
 n = Anzahl der Proben



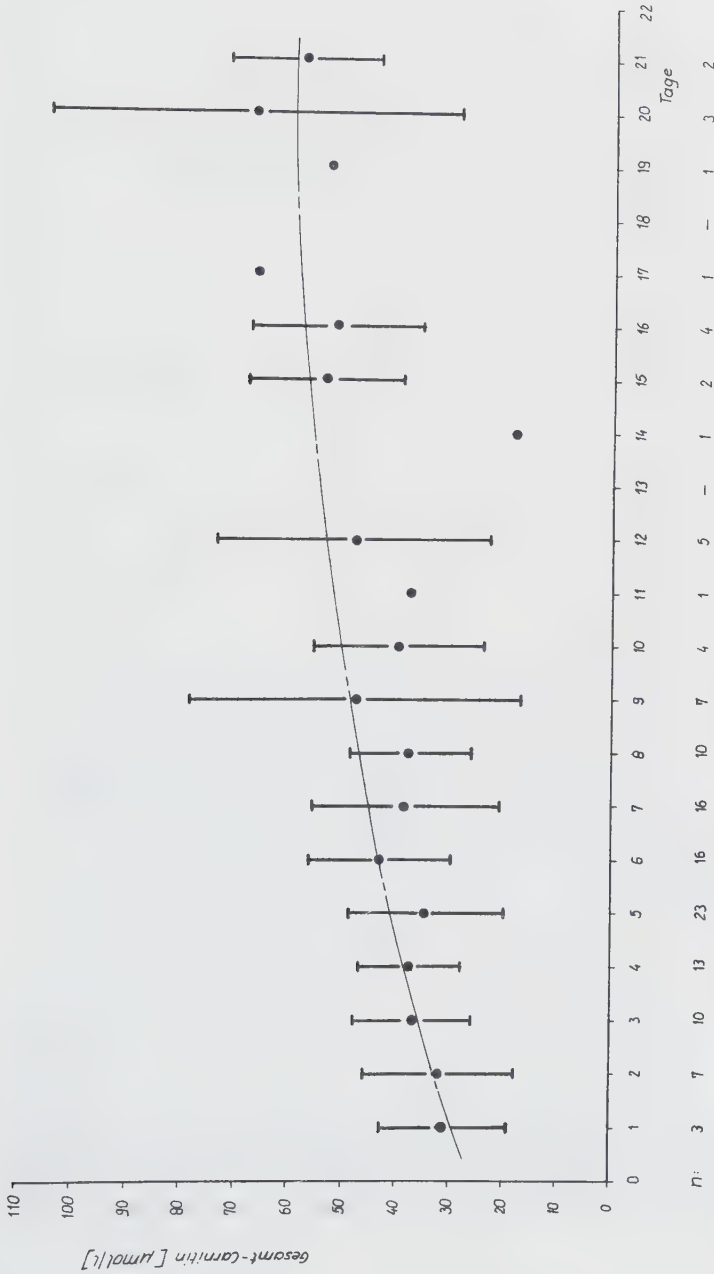


Fig. 7: Carnitinkonzentration im Serum von Neugeborenen während der ersten 21 Lebenstage (Mittelwerte - Standardabweichung); n = Anzahl der Proben

für freies Carnitin erst allmählich ansteigen (siehe auch D.1.2.).

Der Vergleich mit den gesunden Kindern (PKU-Screening) zeigt, daß deren Carnitinspiegel nicht von den Kindern mit Icterus prol. abweichen.

1.3.2. Intraindividueller Verlauf des Carnitinserumspiegels bei Neugeborenen

Die aus therapeutischen Gründen bei Neugeborenen mit Icterus prolongatus neonatorum notwendige Verlaufskontrolle der Bilirubinwerte machte eine regelmäßige Blutabnahme in den ersten Tagen nach der Geburt nötig. So war es möglich, von ein und demselben Neugeborenen im Abstand von Tagen Serumproben zur Carnitinbestimmung zu erhalten. Bei 22 Neugeborenen wurden jeweils bei drei oder mehreren Serumproben, innerhalb weniger Tage, der Verlauf von Gesamtcarnitin, freiem Carnitin und kurzkettigem Acylcarnitin bestimmt. Die individuellen Schwankungen des Carnitinspiegels können aus Tabelle 6 a + b entnommen werden. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Meßwerte nach Geschlechtern getrennt dargestellt.

Dabei zeigt sich, daß die Carnitinspiegel deutliche Schwankungen von Tag zu Tag aufweisen. Das gilt vor allem für die kurzkettigen Acylcarnitinspiegel, während die Spiegel von Gesamtcarnitin und freiem Carnitin insgesamt betrachtet leicht ansteigende Verläufe zeigen. Auffallend ist, daß bei Knaben die Gesamtcarnitin- und freie Carnitin-Konzentrationen häufig in der ersten Lebenswoche initial abnehmen, während Mädchen in den ersten Lebenstagen geringere Ausgangskonzentrationen haben.

Männliche Neugeborene

Lebenstage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
<u>Gesamtcarmin</u>																					
(1) U.				40.2	52.3	35.2	49.6				37.9										
(2) K.	48.3			46.7	36.5		39.2	21.6	25.7												
(3) S.				45.6	22.8																
(4) M.							21.5	18.8	32.2												
(5) E.	42.9				29.8											29.5					
(6) P.					61.7	48.3	40.2					21.6									48.3
(7) B.					40.2	40.6	56.8	51.4				48.3									
(8) F.				48.2	50.9	26.8						70.5			64.8						
(9) Sch.				29.5	26.5	50.1															
(10) B.								25.5	25.5.			25.9			18.8						
(11) A.	13.4			37.6	32.2																
<u>Freies Carmin</u>																					
(1) U.				35.2	30.6	27.0	19.5				29.6										
(2) K.	40.8			25.0	23.2		20.4	16.7	17.7												
(3) S.				27.8	22.2	17.6															
(4) M.							13.0	14.8	22.8												
(5) E.	20.4				22.2																
(6) P.					33.4	33.4	33.3					11.2									
(7) B.					28.7	24.1	27.8	25.9				46.3									
(8) F.				22.2	31.5	24.1						37.0			42.8						
(9) Sch.				14.8	18.5	27.8															27.8
(10) B.								20.4	24.1			21.4			16.7						
(11) A.	7.4			27.8	24.1																

Kurz-Ascarmin

(1) U.				5.0	21.7	8.2	30.1				8.3										
(2) K.	7.5			21.7	13.3		18.8	4.9	8.0												
(3) S.				7.1	23.4	5.2															
(4) M.							8.5	4.0	9.4												
(5) E.	22.5				7.6																
(6) P.					28.3	14.9	6.9					10.4									
(7) B.					11.5	16.5	29.0	25.5				2.0									
(8) F.				26.0	19.4	2.7						33.5			22.0						
(9) Sch.				14.7	8.0	22.3															
(10) B.								5.1	1.4			4.5			2.1						
(11) A.	6.0			9.8	8.1																

Tabelle 6 a: Intraindividueller Verlauf des Serumcarminspiegels in $\mu\text{mol/l}$ bei männlichen Neugeborenen während der ersten 21 Lebenstage

Weibliche Neugeborene		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Lebensstage																						
<u>Gesamtcarнитin</u>																						
(1) C.		24.2	37.6		34.9	34.9			37.6													
(2) M.					21.4	21.4			18.8													
(3) Sch.		18.8	33.5		29.5																	
(4) S.						33.5	29.5	40.6														
(5) E.	30.9				37.8																	
(6) K.					32.4			59.6	32.5													
(7) H.					50.0			43.2	37.9													
(8) F.					40.5			67.8	32.4													
(9) Ü.					27.0			43.2	17.6													
(10) A.					32.7			61.5	86.0													
(11) B.					28.7	28.6		36.9														
<u>Freies Carnitin</u>																						
(1) C.		7.5	22.2		27.8	25.9			35.2													
(2) M.					7.4	16.7			14.8													
(3) Sch.		12.9	16.7		11.1																	
(4) S.					15.8																	
(5) E.	25.9																					
(6) K.					23.3			46.6	16.7													
(7) H.					33.5			36.3	24.1													
(8) F.					23.3			50.0	27.0													
(9) Ü.					14.0			17.7	23.3	14.0												
(10) A.					20.8			37.6	33.3													
(11) B.					16.6	25.0		25.0														
<u>Kurzk.Acyllcarnitin</u>																						
(1) C.		16.7	15.4		7.1	9.0			2.4													
(2) M.					14.0	4.7			4.0													
(3) Sch.		5.9	16.8		17.3																	
(4) S.					13.7			15.0	2.6	23.0												
(5) E.	5.0							7.1														
(6) K.					16.5			6.9	13.8													
(7) H.					17.2			17.8	5.4													
(8) F.					13.0			6.6	19.9	3.6												
(9) Ü.					11.9			23.9	52.7													
(10) A.								11.9														
(11) B.					12.1	3.6																

Tabelle 6 b. Intraindividueller Verlauf des Senncarnitinspiegels in $\mu\text{mol/l}$ bei weiblichen Neugeborenen während der ersten 21 Lebensstage

8.2

35.2

43.4

1.4. Carnitinbestimmung im Urin von gesunden Kindern

Die Werte für die Ausscheidung von Gesamtcarnitin, freiem Carnitin und kurzkettigem Acylcarnitin pro 24 Stunden sind aus Tabelle 7 bzw. Figur 8 a, b ersichtlich.

Die Carnitinausscheidung ist bei beiden Geschlechtern in den ersten Lebensjahren relativ hohen Schwankungen unterworfen. Da der Serumcarnitinspiegel schon früh ziemlich konstante Werte annimmt, dürfte diese Erscheinung mit der exogenen Zufuhr von Carnitin mit der Nahrung in Zusammenhang stehen. Bis zum 1. Lebensjahr ist die Carnitinausscheidung deutlich erniedrigt. Mit zunehmendem Alter der Kinder liegen die Werte nur noch gering unter den in der Literatur beschriebenen Ausscheidungsmengen für Erwachsene (Maebashi (23), Cederblad (6)).

Im Mittel der einzelnen Altersklassen ergeben sich, bei allerdings starken individuellen Schwankungen, ab dem 3. Lebensjahr relativ konstante Werte für die Ausscheidung von freiem Carnitin. Die Ausscheidung von Gesamtcarnitin (Mittelwerte) ist stärkeren Schwankungen unterworfen und abhängig von der Höhe des kurzkettigen Acylcarnitins.

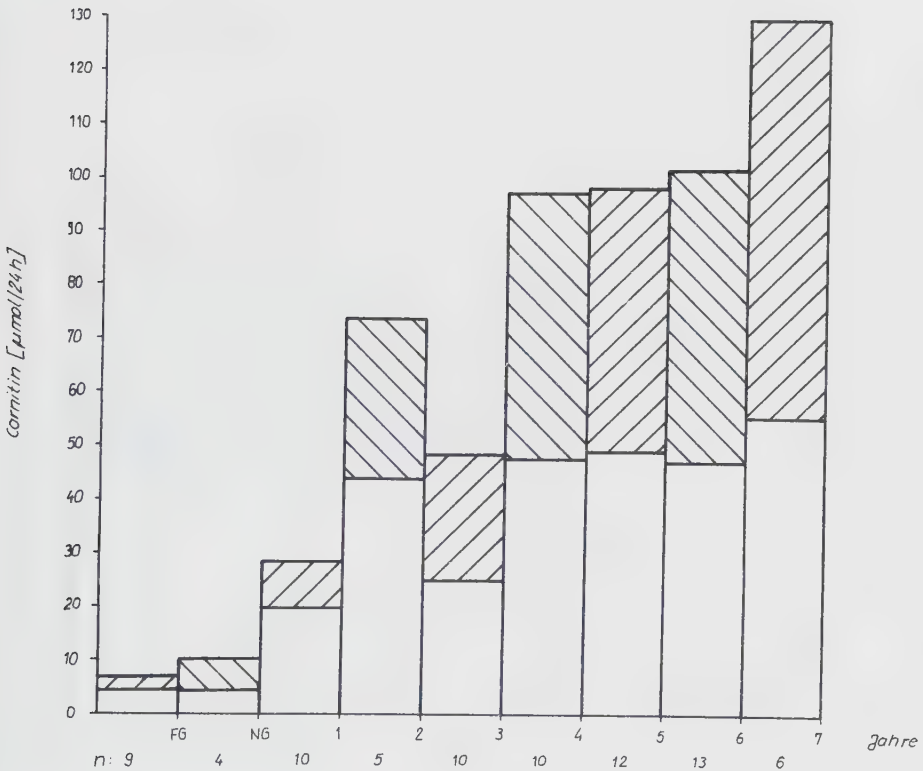


Fig. 8 a: Carnitinausscheidung in 24 Std. in Abhängigkeit des Alters beim männlichen Geschlecht; gesamte Säulen $\hat{=}$ Gesamtcarnitin; offene Säulen $\hat{=}$ Freies Carnitin; schraffierte Säulen $\hat{=}$ kurzkettiges Acylcarnitin.

FG = Frühgeborene, NG = reife Neugeborene

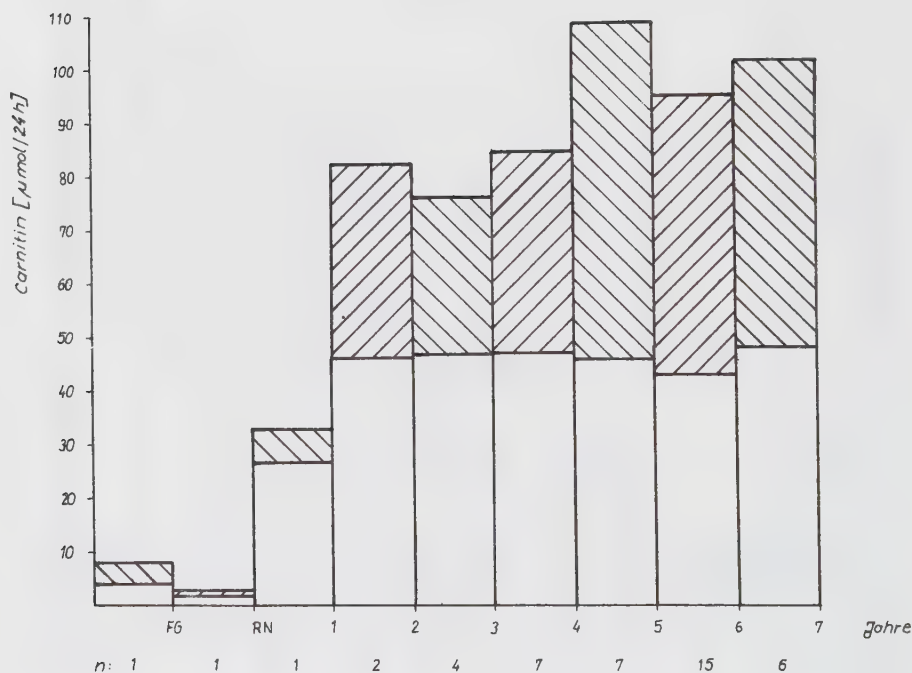


Fig. 8 b: Carnitinausscheidung in 24 Std. in Abhängigkeit des Alters beim weiblichen Geschlecht; gesamte Säulen $\hat{=}$ Gesamtcarnitin; offene Säulen $\hat{=}$ Freies Carnitin; schraffierte Säulen $\hat{=}$ kurzkettiges Acylcarnitin.

FG = Frühgeborene, NG = reife Neugeborene

Während in der Gruppe der Säuglinge die Carnitinausscheidung vorwiegend über freies Carnitin erfolgt, verlagert sich später das Verhältnis zugunsten des kurzkettigen Acylcarnitins, dessen Anteil am Gesamtcarnitin im Vergleich zu Plasma wesentlich höher ist (siehe Figur 9).

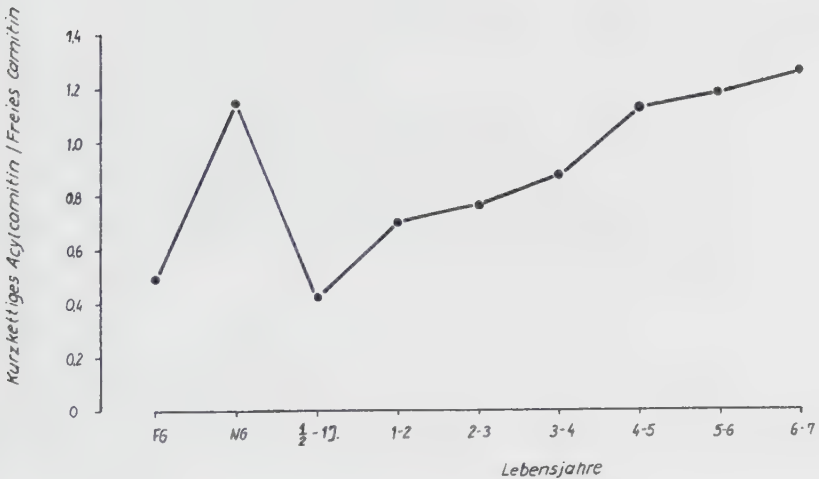


Fig. 9: Carnitinausscheidung - Verhältnis kurzkettiges Acylcarnitin/Freies Carnitin in Abhängigkeit vom Lebensalter

FG = Frühgeborene; NG = Neugeborene

Bei den etwas älteren Kindern zeigt sich eine höhere Carnitinausscheidung bei Knaben. Die von Cederblad und Lindstedt festgestellten Unterschiede in der Carnitinausscheidung im Urin zwischen Männern und Frauen, wobei Frauen eine geringere Carnitinausscheidung aufweisen, dürften sich also schon hier abzeichnen.

Aus Tabelle 8 sind die errechneten Korrelationskoeffizienten für die Gesamtcarnitinausscheidung in Abhängigkeit von Körpergewicht, Körperoberfläche, Kreatininausscheidung und Lebensalter zu entnehmen. Eine erkennbare Korrelation dieser Parameter ergab sich lediglich für die Altersgruppe der bis einjährigen Kinder. Auch bei den Neugeborenen konnte für die Gesamtcarnitinausscheidung in Bezug zum Lebensalter (Tagen) ein Korrelationskoeffizient von 0,8 ermittelt werden.

Tabelle 8: Errechnete Korrelationen der Carnitinausscheidung zu Körpergewicht, Körperoberfläche, Kreatininausscheidung und Lebensalter (o + ♀)

Alter	n	Gesamtcarnitin/ Körpergewicht	Gesamtcarnitin/ Körper- oberfläche	Gesamtcarnitin/ Kreatinin- ausscheidung	Gesamtcarnitin/ Lebensalter
FG	10	0,11	0,13	0,62	0,39
NG	5	0,66	0,37	0,58	0,80
$\frac{1}{2}$ Monat					
1 Jahr	11	0,83	0,81	0,89	0,83
1 - 2 jährig	7	0,43	0,47	0,56	0,46
2 - 3 jährig	14	0,17	- 0,03	- 0,11	- 0,35
3 - 4 jährig	17	0,04	- 0,15	- 0,25	- 0,43
4 - 5 jährig	19	0,13	0,15	0,08	0,37
5 - 6 jährig	28	0,28	0,30	0,43	0,10
6 - 7 jährig	12	- 0,02	- 0,09	- 0,13	0,03

FG = Frühgeborene; NG = Neugeborene; n = Anzahl der Proben

2. Untersuchungen zum Carnitinstoffwechsel im Hunger und bei Gabe von exogenem Carnitin

2.1. Serumcarnitinspiegel im Hungerzustand

Versuchsbedingungen

Vier gesunde erwachsene Probanden unterzogen sich für 48 Stunden einem Hungerversuch. Heparinblut zur Bestimmung von Carnitin, sowie von freien Fettsäuren und Ketonkörpern wurden vor Versuchsbeginn, nach 24 und 48 Stunden abgenommen.

Anhand Tabelle 9 und Figur 10 a - c ist der Verlauf der Serumcarnitinkonzentrationen ersichtlich. Besonders deutlich war bei allen 4 Personen der Anstieg der kurzkettigen Acylcarnitinspiegel, während sich die Spiegel des freien Carnitins nicht einheitlich veränderten. Die Gesamtcarnitinspiegel erhöhten sich mit Ausnahme eines Probanden, bei dem die freie Carnitin- und Gesamtcarnitinkonzentration deutlich abfielen.

Wie aus den Figuren 11 a, b ersichtlich ist, veränderten sich die freien Fettsäuren und Ketonkörper in etwa parallel mit dem Anstieg der kurzkettigen Acylcarnitinspiegel.

Diese Ergebnisse stimmen mit den Untersuchungen von Genuth und Hoppel (16) überein.

Tabelle 9: Carnitin-Hungerversuch

	K 1			K 2			K 3			K 4		
	AW	24 h	48 h	AW	24 h	48 h	AW	24 h	48 h	AW	24 h	48 h
Gesamtcarnitin	45.7	59.1	59.1	48.4	73.9	71.2	57.8	51.1	44.3	57.7	73.8	76.5
Freies Carnitin	38.9	30.6	28.7	41.7	51.9	54.7	46.3	28.7	16.7	51.9	66.7	61.2
Kurzk.Acylcarn.	6.8	28.5	30.4	6.7	22.0	16.5	11.5	22.4	27.6	5.8	7.1	15.3

Angegeben ist die Carnitinkonzentration im Serum in [$\mu\text{mol/l}$]

Versuchsbedingungen wie unter D.2.2. beschrieben; Serumcarnitinbestimmung siehe C.2.

AW = Ausgangswert

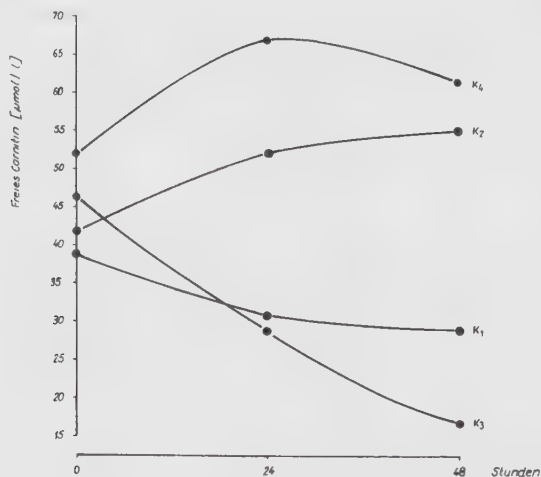
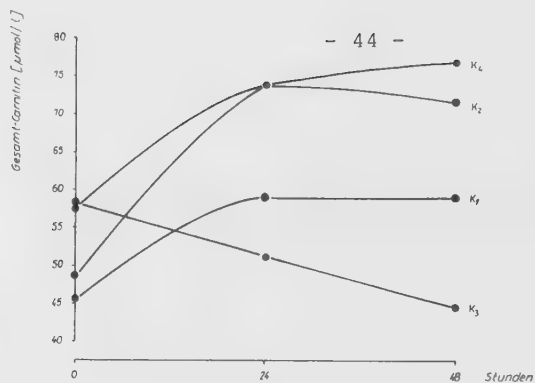
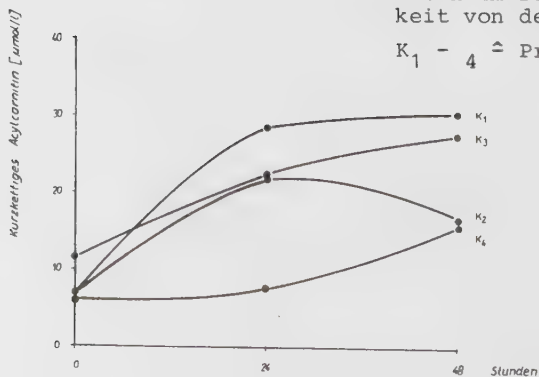


Fig. 10 a - c:

Serumcarnitinspiegel im Hunger

Gesamt-carnitin, Freies Carnitin und kurzkettiges Carnitin im Serum in Abhängigkeit von der Fastendauer

K₁ - 4 $\hat{=}$ Probanden



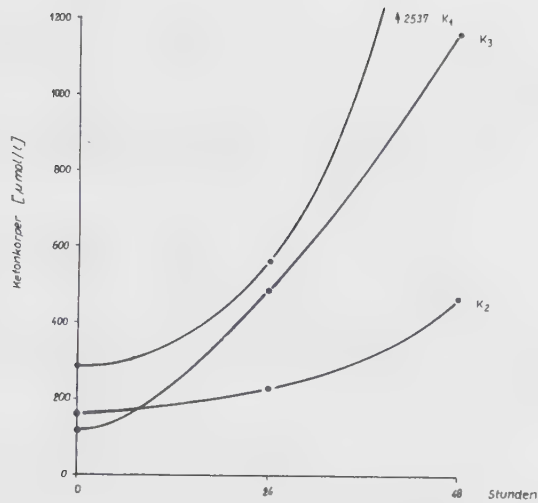


Fig. 11 a: Verhalten der Ketonkörper im Serum in Abhängigkeit von der Fastendauer

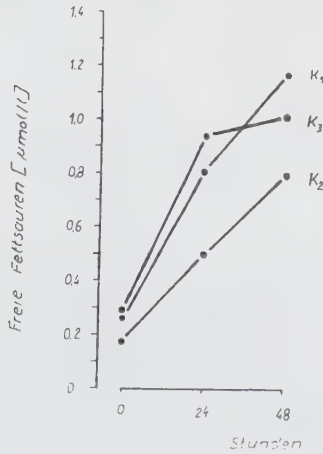


Fig. 11 b: Verhalten der Freien Fettsäuren in Abhängigkeit von der Fastendauer

$K_1 - 3 \hat{=}$ Probanden

2.2. Verhalten von exogen zugeführtem Carnitin bei gesunden Versuchspersonen

a) bei normalem Stoffwechselzustand

Versuchsbedingungen

Bei 2 gesunden Versuchspersonen wurde das Verhalten des Serumcarnitinspiegels, sowie die Carnitinausscheidung nach oraler Gabe von 6 g D,L-Carnitin (Biocarnesine[®], Labaz) untersucht.

Dazu wurde Heparinvenenblut anfangs stündlich, später in 2-stündigem Abstand abgenommen. Eine abschließende Kontrolle des Serumcarnitinspiegels erfolgte nach 24 Stunden am nächsten Morgen. - Urin wurde über 24 Stunden fraktioniert 2-stündlich gesammelt.

Ergebnisse siehe Tabelle 10 a, b und

Figur 12 a - c

Etwa 2 Stunden nach der Carnitingabe erfolgte ein deutlicher Anstieg der Gesamtcarnitinkonzentration im Plasma, wobei jedoch freies Carnitin initial abfiel und sich ein Anstieg erst verzögert zeigte. Der Plasmaspiegel der kurzkettigen Acylcarnitine stieg rasch an. Der prozentuale Anstieg des Acylcarnitins, bezogen auf den Ausgangswert, war deutlich größer als der des freien Carnitins, dessen Spitzenwert nach ca. 3 - 4 Stunden gemessen werden konnte.

Tabelle 10 a:

Verhalten von exogen zugeführtem Carnitin bei normalem Stoffwechselzustand

Serum (Proband 1)

Zeitpunkt d. Blutabnahme	11.00 h Ausg.wert	12.00 h	13.00 h	15.00 h	17.00 h	9.00 h
Gesamtcarnitin	71.2	72.5	90.0	98.1	82.3	75.2
Freies Carnitin	62.1	61.1	66.7	72.3	62.1	61.1
Kurzk.Acylcarn.	9.1	11.4	23.3	25.8	20.2	14.1

Urin (Proband 1)

Sammelperiode	9.00 - 11.00 h Ausg.wert	11.00 - 13.00 h	13.00 - 15.00 h	15.00 - 17.00 h	17.00 - 24.00 h	0.00 - 9.00 h
Gesamtcarnitin	20.1	40.4	130.6	139.9	117.9	57.2
Freies Carnitin	17.0	34.4	103.4	98.7	52.0	44.5
Kurzk.Acylcarn.	3.1	6.0	27.2	41.2	65.9	12.7
Ausscheidungs- menge [μmol/Sammelper.]		80.8	261.2	279.8	825.3	514.8
Gesamtausscheidungs- menge nach Carnitinzufuhr [μmol]	1961.9					

Gemessene Serumcarnitinspiegel in μmol/l bzw. Carnitinaus-
scheidung im Urin in μmol/Std. nach oraler Gabe von 6 g
D,L-Carnitin (Biocarnesine [®], Labaz) jeweils um 11.00 h
Carnitinbestimmung wie unter C.2. beschrieben

Tabelle 10 b:

Verhalten von exogen zugeführtem Carnitin bei normalem Stoffwechselzustand

Serum (Proband 2)

Zeitpunkt d. Blutabnahme	11.00 Ausg.W.	12.00	13.00	14.00	15.00	17.00	9.00
Gesamtcarnitin	60.1	64.5	64.5	81.9	75.2	76.6	80.5
Freies Carnitin	57.4	55.6	51.9	61.1	56.5	61.1	60.2
Kurzk.Acylcarn.	2.7	8.9	12.6	20.8	18.7	15.5	20.3

Urin (Proband 2)

Sammelperiode	9.00 - 11.00 h	11.00 - 13.00 h	13.00 - 15.00 h	15.00 - 17.00 h	17.00 - 24.00 h	0.00 - 9.00 h
Gesamtcarnitin	29.0	51.0	122.7	169.8	125.6	42.2
Freies Carnitin	14.1	23.8	81.9	72.3	57.4	36.2
Kurzk.Acylcarn.	14.9	27.2	40.8	97.5	68.2	6.0
Ausscheidungsmenge [µmol/Sammelper.]		102.0	245.4	339.6	879.2	379.8
[Gesamtausscheidungsmenge nach Carnitinzufuhr [µmol]]					1946.0	

Gemessene Serumcarnitinspiegel in µmol/l bzw. Gesamtcarnitinausscheidung im Urin in µmol/Std. nach oraler Gabe von 6 g D,L-Carnitin (Biocarnesine ®, Labaz) jeweils um 11.00 h
Carnitinbestimmung wie unter C.2. beschrieben

Fig. 12 a - c:

Carnitin-Kinetik nach oraler Zufuhr von 6 g DL-Carnitin.

Verhalten von Serumcarnitinspiegel und Carnitinausscheidung im Urin bei 2 Versuchspersonen über einen Zeitraum von 24 Std. beobachtet.

Proband 1: Punkte und durchgezogene Linien

Proband 2: Dreiecke und gestrichelte Linien

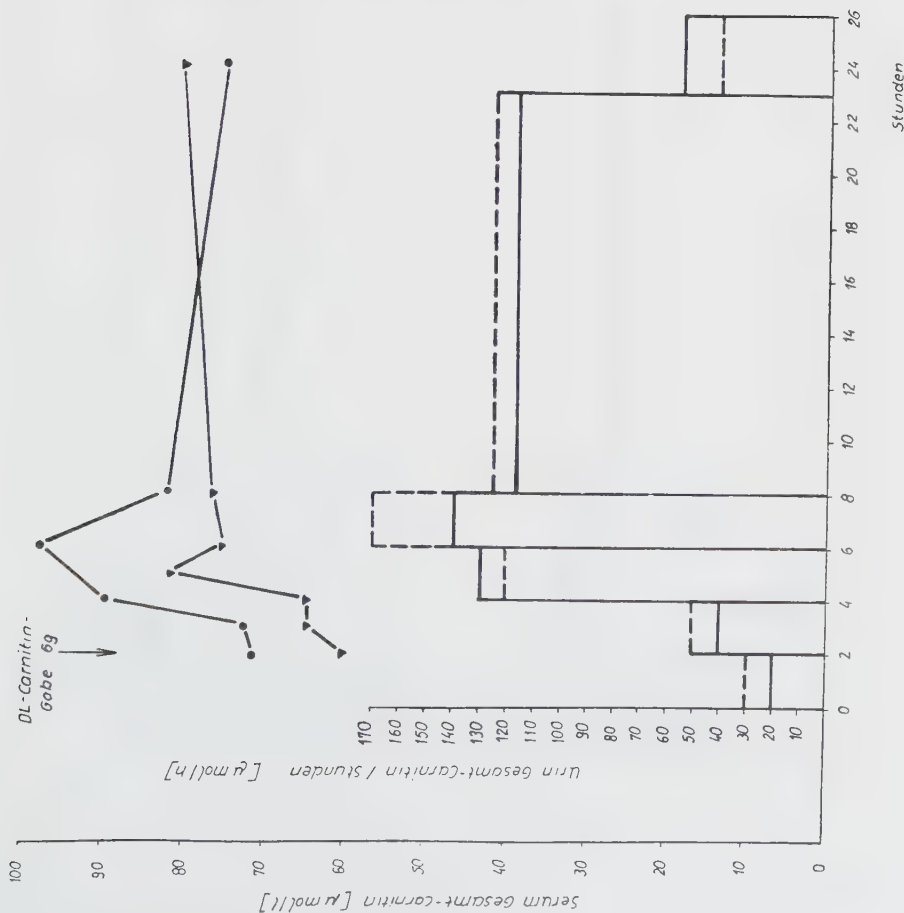
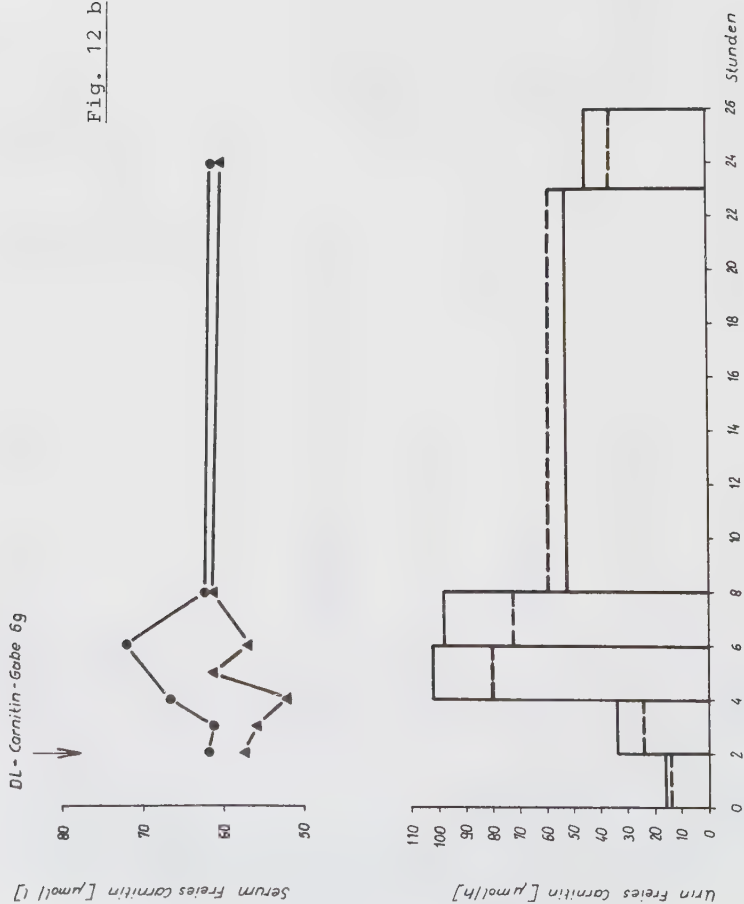
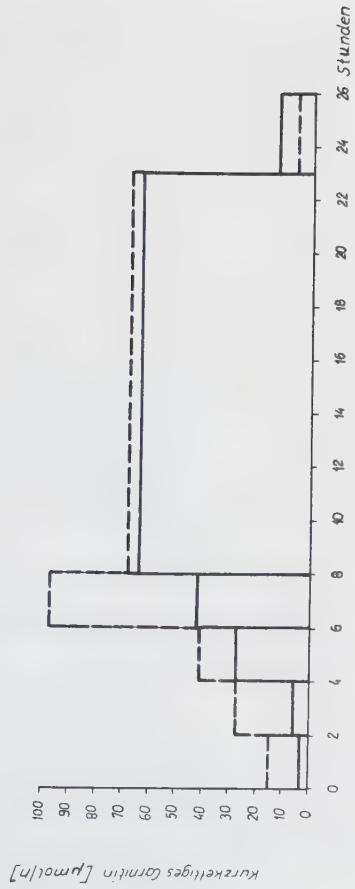


Fig. 12 b





Ein erheblicher Teil des exogen zugeführten Carnitins dürfte demnach rasch acetyliert werden. - Nach 24 Stunden entsprachen die Werte für freies Carnitin wieder annähernd den Ausgangswerten, während die Spiegel des kurzkettigen Acylcarnitins noch deutlich erhöht waren.

Ein eindeutiger Anstieg der Carnitinausscheidung war bereits innerhalb der ersten beiden Stunden nach oraler Carnitineinnahme feststellbar, obgleich sich die stündliche Ausscheidungsrate nach 4 - 6 Stunden noch rund verdreifachte. Ob der erfaßte Gipfel tatsächlich dem Spitzenwert entsprach oder dieser in die nächtliche Sammelperiode fiel, läßt sich nicht sicher feststellen. Überwiegend erfolgte anfangs die Ausscheidung über freies Carnitin, dessen Wert auch nach 24 Stunden noch deutlich erhöht war. Der Anteil des kurzkettigen Acylcarnitins am Gesamtcarnitin war auch nach exogener Carnitinzufuhr allerdings stets höher als im Plasma.

b) Stoffwechsel von exogen zugeführtem Carnitin im Hunger

Es galten dieselben Bedingungen wie im vorigen Versuch mit dem Unterschied, daß die Versuchsperson vor der oralen Carnitingabe 24 Stunden gefastet hatte.

In der vorliegenden Arbeit wurde bereits gezeigt, daß die Spiegel für Gesamtcarnitin und kurzkettiges Acylcarnitin im Hunger an-

steigen (siehe D.2.2.). Wie deshalb zu erwarten, waren gegenüber dem vorigen Versuch jetzt höhere Ausgangswerte für Gesamt- und vor allem für kurzkettiges Acylcarnitin, sowie ein erniedrigter Spiegel von freiem Carnitin vorhanden (siehe Tabelle 11).

Nach Einnahme von 6 g D,L-Carnitin (Biocarnesine[®], Labaz) erfolgte zunächst wieder ein Abfall des freien Carnitins. Der Anstieg der bereits erhöhten kurzkettigen Acylcarnitinkonzentration fiel sehr gering aus; allerdings war der Anteil des Acylcarnitins am Gesamtcarnitin deutlich erhöht.

Nach 4 Stunden war der maximale Anstieg des Gesamtcarnitinspiegels im Plasma erreicht, der wie im Versuch ohne Fasten ca. 20 $\mu\text{Mol/l}$ ausmachte. Etwa 9 Stunden nach oraler Einnahme des Carnitins wurde das Fasten beendet, so daß die Carnitinspiegel bis zum nächsten Morgen wieder denen bei normalem Stoffwechselzustand entsprachen.

Die Ausscheidung erfolgte vorwiegend in Form von kurzkettigem Acylcarnitin, wobei im Urin wiederum ein höherer Anteil von kurzkettigem Acylcarnitin am Gesamtcarnitin als im Plasma vorlag. Die Gesamtausscheidung von Carnitin ist im Hunger jedoch geringer als bei normalem Stoffwechselzustand.

Die Figuren 13 a, b zeigen vergleichsweise das Verhältnis von kurzkettigem Acylcarnitin zu freiem Carnitin im Serum, als auch im Urin, nach oraler Gabe von D,L-Carnitin im Hunger sowie bei normalem Ernährungszustand.

Tabelle 11:

Stoffwechsel von exogen zugeführtem Carnitin im Hunger

Serum

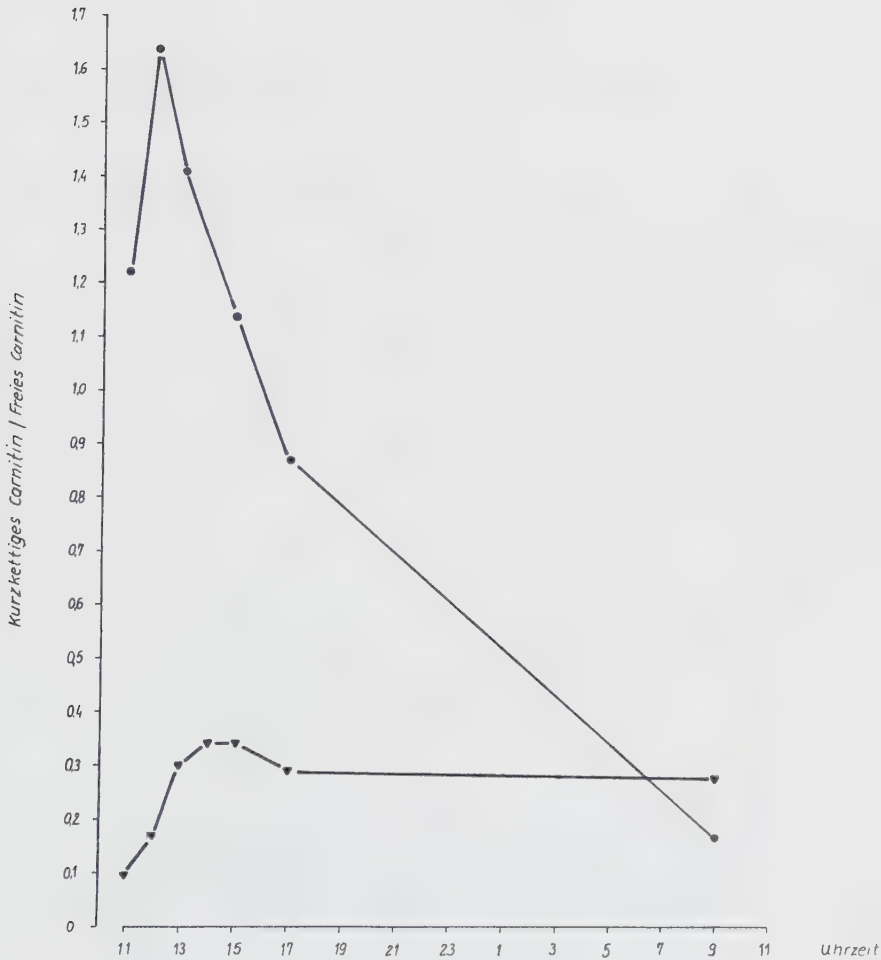
Zeitpunkt d. Blutabnahme	11.00 h Ausgangsw.	12.00 h	13.00 h	15.00 h	17.00 h	9.00 h
Gesamtcarnitin	78.5	75.9	78.5	97.4	92.0	73.1
Freies Carnitin	35.3	28.8	32.6	45.6	49.3	62.3
Kurzk.Acylcarn.	43.2	47.1	45.9	51.8	42.7	10.8

Urin

Sammelperiode	9.00 - 11.00 Ausgangswert	11.00 - 13.00	13.00 - 17.00	17.00 - 9.00
Gesamtcarnitin	30.1	59.7	170.4	59.5
Freies Carnitin	1.1	3.8	20.2	13.5
Kurzk.Acylcarn.	29.0	55.9	150.2	46.0
Ausscheidungs- menge [$\mu\text{mol}/$ Sammelperiode]		119.4	681.6	952.0
Gesamtausscheidung nach Carnitinzufuhr [μmol]				1753.0

Gemessene Serumcarnitinspiegel in $\mu\text{mol}/\text{l}$ bzw. Carnitinaus-
scheidung im Urin in $\mu\text{mol}/24 \text{ h}$ nach oraler Gabe von 6 g
D,L-Carnitin (Biocarnesine[®], Labaz) um 11.00 h

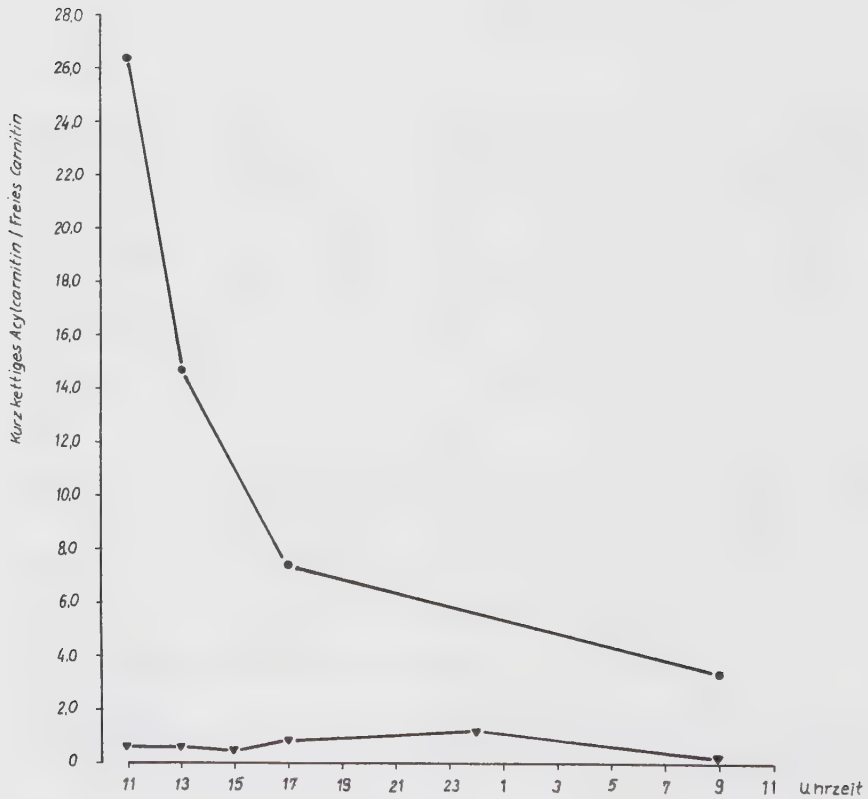
Carnitinbestimmung wie unter C.2. beschrieben



Figur 13 a: Verhältnis von kurzkettigem Acylcarnitin zu Freiem Carnitin im Serum nach oraler Carnitin-zufuhr.

Dreiecke: Kurzkettiges Acylcarnitin/Freies Carnitin bei normalem Ernährungszustand

Punkte: Kurzkettiges Acylcarnitin/Freies Carnitin bei Hunger



Figur 13 b: Verhältnis von kurzkettigem Acylcarnitin zu Freiem Carnitin im Urin nach oraler Carnitinzufuhr

Dreiecke: Kurzkettiges Acylcarnitin/Freies Carnitin bei normalem Ernährungszustand

Punkte: Kurzkettiges Acylcarnitin/Freies Carnitin bei Hunger

E. DISKUSSION

I. Besonderheiten des Carnitinstoffwechsels bei Kindern

1. Serumcarnitinspiegel bei Kindern

Carnitin hat eine essentielle Carrierfunktion für die Verwertung langkettiger Fettsäuren. Beim Menschen kommen als Carnitinquellen 2 Möglichkeiten in Betracht; einmal die Aufnahme mit der Nahrung und andererseits die endogene Synthese.

Nach Untersuchungen an Ratten beträgt die nahrungsabhängige Carnitinaufnahme nur ca. 23 % des täglichen Bedarfs (8), der größere Teil wird synthetisiert. Zur Carnitinsynthese werden die beiden Aminosäuren Lysin und Methionin benötigt; die einzelnen Schritte sind $\text{Lysin} \rightarrow \epsilon, N\text{-trimethyllysin} \rightarrow \gamma\text{-Butyrobetain} \rightarrow \text{Carnitin}$ (35). Wie Rebouche und Engel (32) zeigen konnten, wird $\gamma\text{-Butyrobetain}$ beim Menschen nur in Leber, Niere und Gehirn zu L-Carnitin hydroxyliert. Die Aktivität der $\gamma\text{-Butyrobetain-Hydroxylase}$ (EC 1.14.11.1) der Leber ist vom Lebensalter abhängig. Sie steigt von 12 % bei Kleinkindern über 30 % bei 2 1/2 Jährigen auf 100 % bei Erwachsenen (32). Möglicherweise ist die erniedrigte $\gamma\text{-Butyrobetain-Hydroxylase-Aktivität}$ bei Kindern Folge der geringeren Muskelmasse im Vergleich zum Körpergewicht; andernfalls könnte in diesem Lebensabschnitt eine ausreichende Carnitinversorgung mit der Nahrung von großer Bedeutung sein.

Nach den Ergebnissen von Rudman et al (33) soll der größte Teil des körpereigenen Carnitins nor-

malerweise mit der Nahrung aufgenommen werden und die endogene Carnitinsynthese erst bei verminderter exogener Zufuhr an Bedeutung gewinnen. Leider sind bisher nur geringe und widersprüchliche Angaben zum Carnitingehalt von Nahrungsmitteln bekannt; zum Teil bedingt durch unterschiedliche Extraktionsverfahren bei der Bestimmung und differierende Carnitinverluste je nach Art der Zubereitung. Im allgemeinen ist jedoch der Carnitingehalt in pflanzlichen Nahrungsmitteln deutlich niedriger als in tierischen Produkten. Tabelle 12 gibt eine Übersicht über die Carnitingehalte einiger Nahrungsmittel (25).

Tabelle 12: Carnitingehalt verschiedener Nahrungsmittel

Nahrungsmittel	Gesamtcarnitin (mg/100g)
Gerste, Mais, Bohnen, Kopfsalat, Ei	0
Brot (Wasa)	0,24
Hafer Schleim	11,70
Blumenkohl	0,13
Avokadobirne	1,25
Rindfleisch	59,80 - 67,40
Schafffleisch	209,26
Kuhmilch	1,96 - 3,91
Magermilchpulver/Trockensubstanz	15,00
Magermilchpulver/gelöst	1,54

(Aus "Carnitine metabolism in human subjects - I., Normal metabolism" Mitchell, American Journal of Clinical Nutrition 31/1978).

.

In der vorliegenden Arbeit wurden erstmals an Hand eines größeren Kollektivs Normalbereiche für Serum-

carnitinkonzentrationen bei Kindern erstellt. Schmidt-Sommerfeld (34) fand bei Verlaufsbestimmungen des freien Serumcarnitinspiegels während der ersten 6 Lebenstage konstante individuelle Spiegel, die altersunabhängig zwischen 10 - 60 nmol/ml lagen. Dagegen berichtet Cederblad (9) über eine positive Korrelation zwischen Alter und Serumcarnitinspiegel. Ikeakor und Lake (21) fanden bei 19 Serumproben von Kindern unterschiedlichen Alters einen durchschnittlichen Carnitinspiegel von 41,91 nmol/ml (15.8 - 100.8 nmol/ml).

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde bei einer wesentlich größeren Anzahl von Kindern das intraindividuelle Verhalten des Serumcarnitins während der ersten 21 Lebenstage verfolgt und dabei Gesamtcarnitin, freies Carnitin und kurzkettiges Acylcarnitin bestimmt. Außerdem wurden die Serumcarnitinspiegel von Kindern bis zum Alter von 15 Jahren, getrennt nach Geschlechtern und aufgeteilt in 6 Altersgruppen, untersucht. Während der ersten 14 Lebenstage wurden im Vergleich zu den Normalwerten Erwachsener deutlich niedrigere Werte für Gesamt- und freies Carnitin ermittelt. In Arbeiten von Genuth und Hoppel (16, 17) und Deufel (13) machen die kurzkettigen Acylcarnitine bei Erwachsenen übereinstimmend etwa 20 - 30 % des freien Carnitins aus. Wie die vorliegende Arbeit zeigt, liegt der Anteil an kurzkettigem Acylcarnitin bei Neugeborenen bei ca. 50 %, in der Altersgruppe der 1/4 - 3/4-Jährigen bei ca. 42 % und liegt erst in der Gruppe der 9 - 15-Jährigen mit 26 % im Bereich des Erwachsenenwertes.

Beim Erwachsenen ist eine Erhöhung des Acylcarnitin-Carnitin-Quotienten in bestimmten Stoffwechsellagen, wie im Hunger und in der diabetischen Ketoacidose bekannt (19). Dies wird in der vorliegenden Arbeit bestätigt.

Im Gegensatz zu Schmidt-Sommerfeld et al (34), die während der frühen Neugeborenenphase relativ konstante Carnitinserumspiegel fanden, konnten wir während der ersten 21 Lebenstage nahezu eine Verdopplung der Serumspiegel für freies Carnitin und Gesamtcarnitin feststellen (Tab.5).

Infolge der niedrigen Aktivität der γ -Butyrobetain-Hydroxylase ist die endogene Carnitinsynthese in der Leber noch gering, so daß eine ausreichende exogene Carnitinzufuhr mit der Nahrung durchaus von Bedeutung ist. Dies zeigen Untersuchungen von Schmidt-Sommerfeld et al (34), wonach der Carnitingehalt des Fettgewebes Neugeborener zeitlich mit dem Beginn der Nahrungsaufnahme ansteigt.

Zudem konnten Novak et al (27) zeigen, daß Säuglinge, die ausschließlich mit carnitinfreier Kost (auf Sojabohnen-Basis) ernährt wurden, niedrigere Serumcarnitinspiegel aufwiesen als solche, die carnitinhaltige Milchkost erhielten oder gestillt wurden.

Während beim stoffwechselgesunden Erwachsenen die Carnitinserumspiegel im circadianen Verlauf und auch über längere Zeiträume weitgehend stabil sind, haben wir in der Neugeborenenphase auffallende Tagesschwankungen festgestellt.

Leider liegen uns keine Angaben über den genauen

Zeitpunkt der Blutabnahmen, bzw. der Nahrungsaufnahme vor. Eine unzureichende endogene Synthese und unterschiedliche Zeiträume zwischen Nahrungsaufnahme und Blutabnahme wären eine mögliche Erklärung. Untersuchungen von Schmidt-Sommerfeld et al (34) über den Carnitingehalt der Muttermilch zeigen, daß der Gesamtcarnitingehalt innerhalb einer Woche nach der Geburt stark ansteigt und nach einem Monat Stillzeit wieder beinahe auf die Ausgangswerte abfällt. In der gleichen Arbeit wird berichtet, daß fertige Säuglingskost auf Milchbasis einen vergleichbaren, zum Teil auch höheren Carnitingehalt besitzt. Ferner wurde bei Ratten nachgewiesen, daß injiziertes DL-Carnitin rasch zu einer Anreicherung in der Muttermilch führt (18).

Penn und Schmidt-Sommerfeld untersuchten freie Fettsäuren und Ketonkörper im Serum Frühgeborener, wobei eine Gruppe parenteral ernährt und eine zweite zusätzlich mit L-Carnitin substituiert wurde (29). Bei den Säuglingen, die Carnitin erhielten, wurde ein niedrigeres Verhältnis von freien Fettsäuren zu Ketonkörpern gemessen. Dies läßt vermuten, daß sich bei zu geringer Carnitinzufuhr bei Frühgeborenen eine Beeinträchtigung der β -Oxydation mit möglichen Folgen für den Energiehaushalt ergeben kann.

Penn et al (30) untersuchten in einer anderen Arbeit die Serumcarnitinspiegel bei Frühgeborenen (ca. 35.SSW) unter verschiedenen Ernährungsbedingungen. Während eine Gruppe die ersten 5 Tage parenteral ernährt wurde mit einem Gemisch aus Glucose, Elektrolyten, Lipiden und Amino-

säuren, welche auch die Carnitinvorstufen Lysin und Methionin enthielten, wurde die andere Gruppe mit einem carnitinhaltigen Milchprodukt ernährt oder gestillt. Bei parenteraler Ernährung sanken die Serumcarnitinspiegel und die Carnitinausscheidung wurde deutlich reduziert, um erst nach Umstellung auf orale Kost wieder anzusteigen. Dagegen blieb bei der Kontrollgruppe der Serumcarnitinspiegel während der ersten 5 Tage ziemlich konstant. Es sei erwähnt, daß die in dieser Arbeit angegebenen durchschnittlichen Serumcarnitinwerte gut mit den von uns gemessenen Werten übereinstimmen.

Freies Carnitin ($\mu\text{mol/l}$)	Penn et al (30)	eigene Messungen (siehe Tab. 5) Durchschnittswerte
1. Tag	19.2	20.4
5. Tag	18.7	22.7
10. - 17. Tag	31.3	34.4

2. Carnitinausscheidung bei Kindern

Carnitin wird vorwiegend unverändert als freies Carnitin und als Acylcarnitin über die Niere ausgeschieden. Bei Erwachsenen stellten Cederblad und Lindstedt (6) bei Frauen eine niedrigere Carnitinausscheidung fest, als bei Männern. Ferner wurden erhebliche individuelle Schwankungen mit einer tagsüber signifikant höheren Ausscheidung als nachts beobachtet, welche möglicherweise durch eine ernährungsabhängige Carnitinzufuhr bedingt ist (6).

Penn et al (30) bestimmten die Carnitinausscheidung im Urin bei Frühgeborenen, die die ersten 5 Lebenstage carnitinfrei parenteral und anschließend mit normaler Säuglingskost ernährt wurden. Innerhalb der ersten 5 Tage kam es zu einer auffallenden Reduktion der Carnitinausscheidung; im Anschluß daran lagen die Werte für Gesamt-, freies - und Acylcarnitin in vergleichbarer Höhe mit den von uns bestimmten Werten der entsprechenden Altersgruppe.

Über die Carnitinausscheidung bei Kindern liegen in der Literatur nur wenige Daten vor, insbesondere wurde kaum zwischen Gesamt-, freiem Carnitin und Carnitinstern differenziert. Di Mauro et al (11) bestimmten die Carnitinausscheidung bei Kindern mit spinaler Muskeldystrophie vom Typ Duchenne, wo sie signifikant erniedrigt ist, und dazu Referenzwerte bei 21 gesunden Jungen im Alter von 4 - 12 Jahren. Unsere Ergebnisse von 122 Kindern im Alter bis zu 7 Jahren liegen in vergleichbarer Höhe mit der von Di Mauro angegebenen durchschnittlichen Ausscheidung von $97 \mu\text{mol}/24 \text{ h}$. Diese ermittelten Werte liegen deutlich unterhalb von den von Cederblad und Lindstedt angegebenen Normalwerten bei erwachsenen Männern und lassen somit eine Altersabhängigkeit der Carnitinausscheidung vermuten. Zur Korrelation der Carnitinausscheidung zum Lebensalter siehe D.1.4.

Geschlechtsspezifische Unterschiede im Carnitinhalt des Urins können wir bei unseren Untersuchungen ab dem 5. Lebensjahr wie bei den Erwachsenen feststellen. In den jüngeren Altersklassen

ist die Anzahl der Proben zu gering, um eindeutige Aussagen zu machen. Maebashi et al (23) konnten die unterschiedliche Carnitinausscheidung zwischen beiden Geschlechtern ebenfalls bei Jugendlichen (8 - 15 Jahre) und Erwachsenen (16 - 50 Jahre) feststellen. In der Gruppe der über 50-Jährigen war die Carnitinausscheidung signifikant geringer und geschlechtsunabhängig. Jedoch fielen ihm keine tageszeitlichen Schwankungen auf, so daß die von Cederblad und Lindstedt (6) aufgestellte Theorie über die Abhängigkeit der Carnitinausscheidung von körperlicher Aktivität und Muskelmasse in Frage gestellt werden muß. Maebashi (23) arbeitete mit einer säulenchromatographischen Methode und erhielt damit höhere Carnitinkonzentrationen im Urin als mit der enzymatischen Methode, so daß ein direkter Vergleich nicht möglich ist.

Im Gegensatz zu den meisten bisherigen Untersuchungen haben wir im Urin neben Gesamtcarnitin auch freies Carnitin und kurzkettiges Acylcarnitin bestimmt. Ab dem 3. Lebensjahr war die Ausscheidung von freiem Carnitin (Mittelwerte) relativ konstant. Dagegen zeigt die Ausscheidung von Gesamtcarnitin eine steigende Tendenz bedingt durch die Zunahme des Acylcarnitins (Figur 9). Eine Ausnahme bilden die Neugeborenen, bei denen ein umgekehrtes Ausscheidungsverhältnis gefunden wurde - möglicherweise aufgrund der geringen Probandenzahl. Ab dem 4. Lebensjahr ist die absolute Acylcarnitinausscheidung höher als die des freien Carnitins. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Engel et al (15), die bei ihren Untersuchungen mit steigendem freien Serumcarnitin-

spiegel eine Zunahme der Acylcarnitinausscheidung beobachteten. Sie vermuteten eine tubuläre Sekretion oder auch renale Produktion von kurzkettigem Acylcarnitin bei hohen Serumcarnitinspiegeln. Eine andere Erklärung wäre eine kompetitive Hemmung der tubulären Rückresorption von Acylcarnitin bei hohen Serumcarnitinkonzentrationen. Möglicherweise kommt die hohe Acylcarnitinausscheidung auch durch eine mit zunehmendem Alter effektiveren endogenen Carnitinsynthese in der Leber zustande.

II. Carnitinstoffwechsel im Hungerzustand

Untersuchungen des Carnitinhaushalts im Hunger, also bei Umstellung des Stoffwechsels auf Fettsäureoxydation, wurden bereits früher an Ratten und beim Menschen durchgeführt.

Beim Menschen beobachteten Genuth und Hoppel (16, 17) einen nicht streng proportionalen Abfall von freiem Serumcarnitin bei gleichzeitigem Anstieg von Acylcarnitin. Daneben kam es infolge gesteigerter Lipolyse zu einem signifikanten Anstieg der freien Fettsäuren und der Ketonkörper.

Ähnliche Veränderungen zeigten sich nach 24-stündigem Hungern bei den hier untersuchten vier Versuchspersonen, nämlich ein Anstieg des kurzkettigen Acylcarnitins bei gleichzeitiger Zunahme der Ketonkörper. Die Spiegel des freien Carnitins, die erwartungsgemäß erst abfallen sollten und im Tierversuch nach 24 Stunden

leicht anstiegen, verhielten sich nicht einheitlich.

Die Zunahme von Acetylcarnitin im Hunger dürfte auf ein erhöhtes Angebot von Acetyl-CoA infolge gesteigerter Fettsäureoxydation zurückzuführen sein. Offenbar werden in den Geweben, vor allem in der Leber, überschüssige Acetylgruppen von Acetyl-CoA auf Carnitin übertragen, die dann in Form von Acetylcarnitin ins Blut gelangen. Acetyl-CoA selbst kommt im Serum nicht vor.

III. Pharmakokinetik von oral zugeführtem Carnitin

Die bisher in der Literatur belegten Untersuchungen zur Carnitinresorption sind gering. Carnitin wird, ähnlich wie wasserlösliche Vitamine, im Darm resorbiert; jedoch ist der genaue Resorptionsmechanismus über die Darmmucosa nicht bekannt. So ist auch nicht sicher, ob die Mucosazellmembran für freies Carnitin oder nur für verestertes Carnitin permeabel ist. Der rasche Anstieg von Acetylcarnitin im Serum nach oraler Carnitingabe - aber nicht nach i.v. Injektion - könnte dafür sprechen, daß Carnitin vorwiegend in veresteter Form resorbiert wird.

Angelini et al (1) beobachteten bei einer 10-jährigen Patientin mit Muskelcarnitinmangel unter oraler Carnitintherapie von 15 g L-Carnitin innerhalb 1/2 Stunde einen, im Vergleich zu einer gesunden Kontrollperson, geringeren Anstieg des Serumcarnitinspiegels. Nur kurzfristig (für 3 Stunden) lag der Serumspiegel

über dem Normalbereich und fiel dann innerhalb der nächsten drei Stunden auf den Ausgangswert ab, während bei der Kontrollperson der Serumspiegel länger erhöht blieb. Engel et al (22) gaben einem 11-jährigen Jungen mit Carnitinmangelsyndrom 500 mg DL-Carnitin. Der Serumcarnitinspiegel erreichte sein Maximum nach 3 Stunden und war auch nach weiteren 5 Stunden noch deutlich erhöht. Auch bei anderen oral mit Carnitin behandelten Patienten stieg der Serumcarnitinspiegel im Gegensatz zum Muskelcarnitingehalt an. In diesen Arbeiten wurde leider Acetylcarnitin nicht bestimmt, so daß eine mögliche Veresterung des zugeführten Carnitins nicht erfaßt werden konnte.

In der vorliegenden Arbeit wurde Gesamt- und freies Carnitin im Serum und Urin bei gesunden Probanden nach oraler Gabe von 6 g DL-Carnitin gemessen. In Übereinstimmung mit Engel (22) konnte ein Anstieg der Gesamtcarnitinkonzentration nach ca. 2 Stunden beobachtet werden, während der Gipfel vom freien Carnitin, nach kurzfristigem initialen Abfall, gleichfalls nach 3 Stunden auftrat. Darüber hinaus zeigten die vorliegenden Untersuchungen einen überproportionalen Anstieg der kurzkettigen Acylcarnitine, der wohl durch eine schnelle Acetylierung des zugeführten Carnitins verursacht ist. Während die Konzentration von freiem Carnitin nach ca. 6 Stunden bereits wieder in Höhe des Ausgangswertes lag, waren die Acylcarnitinspiegel auch am nächsten Morgen noch deutlich erhöht.

Mit dem Unterschied, daß der oralen Carnitin-

zufuhr eine 24-stündige Fastenperiode vorausging, wurde der Versuch unter sonst gleichen Bedingungen wiederholt. Bei erwartungsgemäß höheren Ausgangswerten für Gesamt- und Acylcarnitin und vermindertem freiem Carnitin erfolgte der Anstieg von Gesamtcarnitin im Serum im gleichen zeitlichen Abstand und in derselben Größenordnung.

Die unterschiedlichen Auswirkungen der verschiedenen Stoffwechselsituationen auf den Carnitinhalt kommt besonders deutlich in den Quotienten von Acylcarnitin/freiem Carnitin zum Ausdruck. Bei normaler Stoffwechsellage verdreifacht sich der Quotient nach oraler Carnitinzufuhr vor allem durch den Anstieg von Acylcarnitin; dagegen erhöht er sich nach oraler Carnitinzufuhr beim Fasten nur gering innerhalb der ersten beiden Stunden und verringert sich anschließend durch die Zunahme des Anteils an freiem Carnitin (siehe Figur 13 a).

Anders liegen die Verhältnisse nach intravenöser Verabreichung von Carnitin. So fanden Brass und Hoppel (5) bei hungernden und gefütterten Ratten nach i.v. Injektion von Carnitin, wie zu erwarten, einen wesentlich rascheren und höheren Anstieg des Serumcarnitinspiegels. Dagegen kam es kurz nach Carnitininjektion zu einer Abnahme des Acylcarnitin/Carnitin-Quotienten in beiden Stoffwechselsituationen. Lediglich nach 2 Stunden erhöhte sich der Quotient bei den hungernden Ratten signifikant.

Wie aus den eigenen Versuchen zu ersehen ist, wird das oral zugeführte Carnitin durch rasche

Acetylierung, möglicherweise in der Darmschleimhaut, dem endogenen Carnitinpool zugeführt. Bei vorausgegangener Fastenperiode ist der Zuwachs von Acylcarnitin infolge der bereits höheren Acetylierung des freien Carnitins reduziert. Nach Überschreiten des Gipfels verringern sich die Serumspiegel infolge Carnitinaufnahme in die Gewebe, wahrscheinlich durch einen aktiven Transportmechanismus (Christiansen und Bremer (10), Molsted (26)), und durch renale Ausscheidung. Brass und Hoppel (5) haben eine unterschiedliche Carnitinaufnahme der Leber bei hungernden und gefütterten Ratten beobachtet. Die pro Gramm Lebergewebe höhere Aufnahmekapazität bei hungernden Tieren ist möglicherweise sekundär, um genügend Carnitin, bei verminderter oraler Zufuhr, zur Acetylierung bereitzustellen.

Als wesentlichen Unterschied in der Carnitinausscheidung in beiden Stoffwechsellagen beobachteten wir eine signifikant höhere Urinkonzentration an freiem Carnitin bei normaler Nahrungsaufnahme, während nach Hungern die Ausscheidung vorwiegend über Acylcarnitin erfolgte; (siehe Figur 13 b); außerdem war die Gesamtmenge des ausgeschiedenen Carnitins geringer. Ähnliche Ergebnisse erhielten Brass und Hoppel (4) bei ihren Versuchen mit hungernden Ratten, wo nach Beginn des Hungerns die Carnitinausscheidung - insbesondere der Anteil freien Carnitins - deutlich reduziert war. Nach weiteren 3 Tagen kam es zu einer Zunahme der Carnitinausscheidung, wobei der Anteil freien Carnitins immer unter den Kontrollwerten lag, die Acylcarnitinausscheidung jedoch enorm anstieg. Untersuchungen zur Carnitinclearance

ergaben bei normalem Stoffwechselzustand eine effektivere Ausscheidung von Acylcarnitin. Nach 3-tägigem Hungern kam es zu einer unterschiedlichen Reduktion der Acylcarnitin- als auch der freien Carnitin-Clearance; dagegen wurde am 6. Tag ein heftiger Anstieg der Acylcarnitinclearance beobachtet. Durch diese unterschiedliche Carnitin-/Acylcarnitin-Clearance erfolgt möglicherweise eine renale Steuerung des Carnitinhaushalts.

Engel, Rebouche et al (15) fanden nach intravenöser Carnitingabe bei Patienten mit systemischem Carnitinmangel eine signifikant geringere tubuläre Rückresorptionsrate für Carnitin im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen. Mit Zunahme des Serumcarnitinspiegels wurde bei Patienten mit Carnitinmangelsyndrom sowie bei der Kontrollgruppe eine Abnahme der Carnitinrückresorption beobachtet, die für Gesamtcarnitin ausgeprägter war als für freies Carnitin. Als Erklärung geben die Autoren hierfür 2 Möglichkeiten an: einmal könne die tubuläre Sekretion oder Produktion von Acylcarnitin bei höheren Serumspiegeln von freiem Carnitin zunehmen, zum anderen wäre bei höheren intra-tubulären Konzentrationen an freiem Carnitin ein kompetitiver Hemm-Mechanismus denkbar, der eine vermehrte Acylcarnitinausscheidung ermöglicht. Der Carnitinausscheidung mit dem Urin scheint eine große Bedeutung für die Aufrechterhaltung des gesamten körpereigenen Carnitins zuzukommen.

ZUSAMMENFASSUNG

1. In der vorliegenden Arbeit wurden bei einer sehr umfangreichen Kontrollgruppe von insgesamt 224 Kindern, die größtenteils gesund waren oder sich Krankheiten, die den Carnitinstoffwechsel beeinflussen, ausschließen ließen, Normalwerte für freies Carnitin, Gesamtcarnitin und kurzkettiges Acylcarnitin im Serum erstellt (siehe D.1.1.).

Dabei ergab sich, daß die Serumcarnitinspiegel mit zunehmendem Alter leicht ansteigen, der Spiegel für freies Carnitin jedoch bereits in der 3. Lebenswoche in Höhe des Erwachsenenbereichs liegt. Der Gehalt an kurzkettigem Acylcarnitin ist bei Kindern deutlich erhöht. Ferner zeigten sich, wie bei Erwachsenen, Geschlechtsunterschiede, d.h. bei Jungen zwar gering, aber signifikant höhere Serumcarnitinwerte gegenüber den Mädchen.

2. Carnitin wird vorwiegend über die Niere ausgeschieden; bei 122 gesunden Kindern wurde die Carnitinausscheidung im Harn gemessen. Ähnlich wie bei Erwachsenen lagen auch hier Geschlechtsunterschiede vor, nämlich bei Jungen eine höhere Carnitinausscheidung als bei Mädchen. Im Säuglingsalter wird Carnitin vorwiegend in freier Form ausgeschieden. Mit zunehmendem Lebensalter steigt der Anteil an Acylcarnitin im Harn an.
3. Eine Isotopen-Methode zur spezifischen Messung von Acetylcarnitin wurde ausgearbeitet. Mit

dieser Methode wurde gezeigt, daß das im Serum durch Differenzmessung ermittelte säurelösliche, kurzkettige Acylcarnitin zum größten Teil aus Acetylcarnitin besteht.

4. Bei 4 gesunden, erwachsenen Kontrollpersonen wurden die Veränderungen des Serumcarnitingehalts im Hungerzustand bestimmt. Als wesentliches Ergebnis zeigte sich ein deutlicher Anstieg des kurzkettigen Acylcarnitins als Ausdruck eines Acetylgruppen-Überangebotes aus dem hungerbedingten gesteigerten Fettsäureabbau.
5. Durch wiederholte Messung von Serum- und Urinproben wurde das Verhalten des Carnitins nach oraler Zufuhr verfolgt. Im Normalzustand zeigte sich eine kurzfristige Erhöhung des freien Carnitins im Serum, während das Acylcarnitin längere Zeit deutlich erhöht war. Im Hungerzustand, wo bereits ohne Carnitinzufuhr ein erhöhter Spiegel von verestertem Carnitin vorlag, kam es zu einem relativ geringeren Anstieg von Acylcarnitin.

Bei der Carnitinausscheidung im Urin beobachtete man bereits 2 Stunden nach oraler Zufuhr eine deutliche Zunahme der ausgeschiedenen Menge, die auch nach 24 Stunden noch signifikant über dem Kontrollwert lag.
- 6.. Die Ergebnisse wurden im Zusammenhang mit den in der Literatur vorliegenden Berichten diskutiert.

LITERATURVERZEICHNIS

- (1) ANGELINI, C., LÜCKE, S., CANTARUTTI, F. (1976)
Neurology No. 26: 633
- (2) BERGMAYER;
"Methoden der enzymatischen Analyse": 1883 - 1886
- (3) BØHMER, T., HANSSON, V. (1975)
Molec. Cell. Endocr. 3: 103
- (4) BRASS, E.P., HOPPEL, C.L. (1978)
J. Biol. Chem. 253: 2688
- (5) BRASS, E.P., HOPPEL, C.L. (1980)
Biochem. J. 190: 495
- (6) CEDERBLAD, G., LINDSTEDT, S. (1971)
Clin. Chim. Acta 33: 117
- (7) CEDERBLAD, G., LINDSTEDT, S., LUNDHOLM, K. (1974)
Clin. Chim. Acta 53: 311
- (8) CEDERBLAD, G., LINDSTEDT, S. (1976)
Arch. Biochem. Biophys. 175: 173
- (9) CEDERBLAD, G. (1976)
Clin. Chim. Acta 67: 207
- (10) CHRISTIANSEN, R.Z., BREMER, J. (1976)
Biochem. Biophys. Acta 448: 562
- (11) Di MAURO, S., ROWLAND, L.P. (1976)
Arch. Neurol. 33: 204

- (12) Di MAURO, S., TREVISAN, C., HAYS, A. (1980)
Muscle & NERVE 3: 369
- (13) DEUFEL, T. (1981)
Dissertation LMU München
- (14) ENGEL, A.G., ANGELINI, C. (1973)
Science 179: 899
- (15) ENGEL, A.G., REBOUCHE, Ch.J., WILSON, D.M.,
GLASGOW, A.M., ROMSHE, C.A., CRUSE, R.P. (1981)
Neurology 31: 819
- (16) GENUTH, S.M., HOPPEL, C.L. (1979)
Diabetes 28: 1083
- (17) GENUTH, S.M., HOPPEL, C.L. (1981)
Metabolism 30: 393
- (18) HAHN, P., SKALA, J. (1972)
Biochem. J. 127: 107
- (19) HOPPEL, C.L., GENUTH, S.M. (1980)
Am J. Physiol. 238: E 409
- (20) HOSKING, G.P., CAVANAGH, N.C.P., SMYTH, D.P.L.,
WILSON, J. (1977)
Lancet 16.04.1977: 853
- (21) IKEAKOR, I.P., LAKE, B.D. (1978)
Clin. Chim. Acta 82: 197
- (22) KARPATI, G., CARPENTER, St., ENGEL, A.G.,
WATTERS, G., ALLEN, J., ROTHMAN, St.,
KLASSEN, G., MAMER, O.A. (1975)
Neurology 25: 16

- (23) MAEBASHI, M., KAWAMURA, N., SATO, M.,
YOSHINAGA, K., SUZUKI, M. (1976)
J. Lab. Clin. Med. 87: 760
- (24) MARQUIS, N.R., FRITZ, I.B. (1964)
J. Lipid Res. 5: 184
- (25) MITCHELL, M.E. (1978)
Am. J. Clin. Nutr. 31: 293
- (26) MOLSTAD, P. (1980)
Bioch. Bioph. Acta 597: 166
- (27) NOVAK, M., WIESER, P.B., BUCH, M., HAHN, P. (1979)
Pediat. Res. 13: 10
- (28) PANDE, S.V., CARAMANCION, M.N. (1981)
Analyt. Biochem. 112: 30
- (29) PENN, D., SCHMIDT-SOMMERFELD, E., WOLF, H. (1981)
The role of carnitine as an essential nutrient
for premature newborn infants.
Zentrum für Kinderheilkunde der JLU Giessen
- (30) PENN, D., SCHMIDT-SOMMERFELD, E., WOLF, H. (1980)
Early Human Development 4/1: 23
- (31) PONGRATZ, D., HÜBNER, G., DEUFEL, T., WIELAND, O.,
PONGRATZ, E., LIPHARDT, R. (1979)
Klin. Wochenschr. 57: 927
- (32) REBOUCHE, C.J., ENGEL, A.G. (1980)
Biochim. Biophys. Acta 630: 22

- (33) RUDMAN, D., SEWELL, C.W., ANSLEY, J.D. (1977)
J. Clin. Invest. 60: 716

- (34) SCHMIDT-SOMMERFELD, E., NOVAK, M., PENN, D.,
WIESER, P.B., BUCH, M., HAHN, P. (1978)
Pediatr. Res. 12: 660

- (35) TANPHAICHITR, V., BROQUIST, H.P. (1973)
J. Biol. Chem. 248: 2176

DANK:

Unter Leitung von Herrn Prof. Dr. O. Wieland entstand in der Zeit vom Sommer 1982 bis Frühjahr 1985 die hier vorliegende Arbeit. Für die vielen wertvollen Hinweise und Anregungen, aber auch für die nötige Kritik, möchte ich großen Dank aussprechen. Ganz besonderen Dank auch für die Ratschläge, welche nicht in unmittelbarem Zusammenhang mit der Arbeit standen, aber doch für meine momentane berufliche Situation von großer Entscheidung waren.

Herrn Dr. Th. Deufel habe ich für die Überlassung von zahlreichen Serum- und Urinproben, für seine konstruktiven Ratschläge und Kritiken, für seine praktische Unterstützung bei der Arbeit sowie für seine persönliche Beteiligung an den entsprechenden Versuchen mit oraler Carnitinzufuhr besonders zu danken.

Allen Beschäftigten der Forschergruppe Diabetes danke ich für die gute Zusammenarbeit. Herzlichen Dank an jene Mitarbeiter, die sich persönlich für die entsprechenden Versuche zur Verfügung stellten.

Für das mühevollen Tippen meiner Manuskripte danke ich ganz herzlich meiner Schwester, Frau H. Wiblishauser.

Frau Dorwarth hat die Abbildungen nach meinen Skizzen gefertigt; auch dafür großen Dank.

L E B E N S L A U F

Gerhard Ulrich S c h o r e r

Geboren am 2. Oktober 1953 in Schwabmünchen

Eltern: Alois Schorer
 Irene Schorer, geb. Medrisch

Fam.-Stand: ledig

Konfession: römisch-katholisch

1959 - 1965 Volksschule Schwabmünchen

1965 - 1969 Staatl. Realschule Schwabmünchen
 mit Abschluß der Mittleren Reife

1969 - 1970 Besuch der Übergangsklasse am
 Peutinger-Gymnasium Augsburg

1970 - 1973 Holbein-Gymnasium, Augsburg

Mai 1973 Abitur

Juli 1973 - Erfüllung der Wehrpflicht mit frei-
Juni 1975 williger Verpflichtung auf 2 Jahre;
 ausgeschieden als Leutnant d. Res.

Aug. 1975 - Ausbildung zum Zahntechniker
Feb. 1978 (mit Abschluß)

Mai 1978 - Studium der Medizin an der Ludwig-
Mai 1984 Maximilians-Universität, München

Juni 1984 Approbation als Arzt

seit tätig als Assistenzarzt an der Inneren
12. Juni 1984 Abteilung des Städt. Krankenhauses
 Schwabmünchen

